Zur Rotverfärbung des Specks in Rohwürsten

HEIDE VOELTER

München

1967

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546019_0060

Aus dem Institut für Nahrungsmittelkunde
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Vorstand: Professor Dr. L. Kotter

Z U R R O T V E R F Ä R B U N G D E S S P E C K S I N R O H W Ü R S T E N

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n
zur Erlangung der veterinär-medizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Heide Voelter
aus
München

München 1967

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan : Prof. Dr. A. Herrlich
Referent : Prof. Dr. L. Kotter

Tag der Promotion : 27. Februar 1967

Fotodruck: Mikrokopie GmbH, München 22, Bruderstraße 9

Meiner lieben Mutter
in Dankbarkeit
gewidmet

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

Seite

A. EINLEITUNG 1

B. LITERATUR 2

I. Am Reifungsprozeß von Rohwürsten beteiligte Mikroorganismen 2

1. Allgemeines 2
2. Bakterielle Zuckerspaltung und Beeinflussung der Wasserstoffionenkonzentration während des Reifungsprozesses 3

II. Natürliche Farbstoffe der Muskulatur, insbesondere Myoglobin und Hämoglobin 6

III. Derivate von Myoglobin und Hämoglobin 10

1. Sauerstoffverbindungen 10
2. Stickoxydverbindungen 10
   a) Stickoxydverbindungen des Hämoglobins 10
   b) Stickoxydverbindungen des Myoglobins 11
      α) Nitrosomyoglobin und Nitrosomyochromogen 12
      β) Einfluß von Reduktionsmitteln auf die Nitrosomyochromogenbildung 13
      γ) Stabilität der Pökelfarbstoffe 15

IV. Einfluß von Fettabbauprodukten auf die Farbstoffe der Rohwurst 16

Seite

V. Roter fettlöslicher Farbstoff in Rohwürsten 20

C. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

I. Zur Rotverfärbung des Specks in Rohwürsten 22

1. Material 22
2. Methodik 22
3. Ergebnisse 26

II. Identifizierung des natürlichen, fettlöslichen roten Farbstoffes von Rohwürsten 36

D. DISKUSSION 43

E. ZUSAMMENFASSUNG 49

F. LITERATURVERZEICHNIS 50

LEBENSLAUF

A. E I N L E I T U N G

Die Qualität von Rohwurst hängt entscheidend von Farbe, Schnittbild, Aroma und Haltbarkeit ab. Bei der Reifung von Rohwürsten sollen diese Faktoren derart gelenkt werden, daß sie eine optimale Qualität sichern.

Die bei der Rohwurstreifung ablaufenden, meist durch mikrobielle und/oder originäre Enzyme ausgelösten biochemischen Prozesse werden wesentlich durch Temperatur, Luftfeuchtigkeit, Pökelstoff- und Pökelhilfsstoffkonzentration sowie Gewürzzusatz beeinflußt. Ungünstige Bedingungen, wie erhöhte Reifungstemperaturen, können zu qualitätsmindernden Verfärbungen führen. Dazu gehört vor allem auch die Rotverfärbung des Specks von Rohwürsten, aus der ein verwaschenes Schnittbild resultieren kann.

Dieser Arbeit lag die Absicht zugrunde, den bei der Reifung von Rohwürsten in die Speckteilchen wandernden roten Farbstoff zu identifizieren. Außerdem wurde mir die Aufgabe gestellt, einige Faktoren, die die Rotverfärbung des Specks in Rohwürsten beeinflussen, zu untersuchen.

B. L I T E R A T U R

I. AM REIFUNGSPROZESS VON ROHWÜRSTEN BETEILIGTE MIKROORGANISMEN

1. A l l g e m e i n e s

Die Bedeutung der Bakterien am Reifungsprozeß von Rohwurst steht heute außer Zweifel. Zu Beginn dieser Arbeit soll daher auf die Mikroflora von Rohwürsten kurz eingegangen werden.

Die Bildung des Farbstoffes von Rohwürsten wird besonders durch nitratreduzierende und zuckerspaltende Keime beeinflußt. In den zwei ersten Wochen der Reifung steigt der Keimgehalt von Rohwürsten auf 10^8 bis 10^9 Keime/g (17, 85, 109, 128); er soll vom Reifungsverlauf unabhängig sein (109). Nach LERCHE (73) besteht die Rohwurstflora hauptsächlich aus grampositiven "Kokkobazillen", Stäbchen und Hefen (bes. in den Randpartien), jedoch konnten auch Kokken, "Mesentericus-Subtilis-Bazillen" und gramnegative Bakterien nachgewiesen werden. Auch CÉSARI (14) stellte fest, daß am Reifungsprozeß Hefen, proteolytische "Mesentericusbazillen" und gelatineverflüssigende Kokken beteiligt sind.

NIINIVAARA und POHJA (85, 86, 87, 88, 94) beschäftigten sich in mehreren Arbeiten intensiv mit den Mikroorganismen der Rohwurst. Die beiden Autoren konnten 215 verschiedene Bakterienstämme, grampositive und gramnegative, kurze und lange Stäbchen, Mikrokokken, Streptokokken, sog. Kokkenbazillen und Hefen feststellen. Als zur Reduktion von Salpeter befähigt fanden sie folgende Mikroorganismen: 8 Stämme Mikrokokken, 2 Arten der Gattung Bacillus, 2 Arten von Alcaligenes, 2 Arten Aerobacter und ein Sarcinebacterium. Nitratreduzierende Mikrokokken waren zu Anfang der Reifung besonders reichlich vorhanden.

Unter Mitarbeit von SINELL untersuchte LERCHE (76) die Kokkenarten von Rohwürsten: Sehr häufig fanden sie die nitrat-

reduzierenden Mikrokokkenarten wie M. caseolyticus, M. candidus und M. conglomeratus. Erwähnenswert sind auch die Untersuchungen von NIINIVAARA (84) über die Wirkung des Mikrokokkenstammes M 53 auf Rohwürste. Diese Mikrokokken reduzieren Nitrat zu Nitrit und Hydroxylamin (NH_2OH) und hemmen dadurch andere Keime. NIINIVAARA (84) fand, daß optimales Wachstum bei p_H 6,6 bis 7,0 erfolgt. Durch Glucosefermentation sank der p_H-Wert innerhalb von 2 Tagen auf 5,4 ab.

In fertig gereiften Rohwürsten wurden hauptsächlich Laktobazillen festgestellt (17, 18, 20, 54, 74, 100, 113, 128). Sehr häufig wurden auch Streptokokken gefunden (17, 18, 54, 76, 86, 128). Besonders durch Laktobazillen wird infolge Zuckerspaltung die Wasserstoffionenkonzentration erhöht und dadurch die Umrötung begünstigt.

2. Bakterielle Zuckerspaltung und Beeinflussung der Wasserstoffionenkonzentration während des Reifungsprozeßes.

Durch Bildung organischer Säuren aus Kohlenhydraten (originären oder zugesetzten) wird während des Reifungsprozesses die Wasserstoffionenkonzentration erhöht. Von 50 aus Rohwürsten isolierten Stämmen besaßen nach Untersuchungen von TERPLAN (115) 33 die Fähigkeit, Dextrose zu spalten. Starke Säurebildung zeigten 28 Stämme. Von 28 Mikrokokkenstämmen spalteten 22 Dextrose; Lactoseabbau erfolgte nur durch 10 Stämme. Dagegen spalteten alle isolierten Lactobazillenstämme Dextrose.

TERPLAN (115) untersuchte auch die Beziehung zwischen dem prozentualen Anteil von Zuckerzusätzen und dem bakteriellen Abbau in Rohwürsten. Dabei stellte er fest, daß Zuckerzusätze von weniger als 0,2 % schon nach einer Woche bei natur-

gereiften Rohwürsten bakteriell abgebaut sind. Bei Zugabe von 0,8 % Dextrose erfolgte der Abbau der zugefügten Kohlehydratmenge innerhalb von etwa 100 Tagen. Je größer die Menge des zugefügten Zuckers war, umso tiefer sank der p_H-Wert während des Reifungsprozesses. CORETTI und TÄNDLER (19) fanden dagegen, daß eine über das technologisch erforderliche Maß zugesetzte Zuckermenge unverbraucht zurückbleibt, wobei aber kein unmittelbarer Einfluß auf den Geschmack der Wurst ausgeübt wird.

ANDERSEN und TEN CATE (1) glauben, daß die Umwandlung von Zuckern in Säure die einzige ins Gewicht fallende Ursache für die p_H-Wert-Senkung bei der Rohwurstherstellung ist. Für die Senkung um eine p_H-Einheit soll im Schnitt 1 % an Zuckern benötigt werden. Die Ursache für die p_H-Wert-Senkung ist nach TEN CATE (113) die Bildung von Kohlensäure, Ameisensäure, Essigsäure, Buttersäure, Propionsäure, Bernsteinsäure, Zitronensäure, Milchsäure und anderen organischen Säuren. Bei einem p_H-Wert unter 5,0 werde vor allem Milchsäure gebildet, da bei diesem Wert praktisch alle Bakterienarten, ausgenommen die der Gruppe der Lactobazillen, absterben.

TERPLAN (115) konnte durch Zusatz keimhemmender Stoffe zu Rohwürsten eine Erniedrigung der Wasserstoffionenkonzentration nachweisen: Mit Hemmstoff versetzte Würste waren wesentlich keimärmer, zeigten langsameren Zuckerabbau und höhere p_H-Werte als Kontrollproben. Auch bei tieferen Temperaturen ist die Tätigkeit zuckerspaltender Bakterien geringer als bei höheren: Naturgereifte Würste säuern langsamer und weniger (Reifungstemperatur 12°C) als schnellgereifte (Reifungstemperatur 20 - 23°C).

Nach CORETTI und TÄNDLER (19) ist für die Beurteilung des p_H-Wertes auch der Reifungszustand der Rohwurst besonders wichtig. Mit zunehmender Reifung entstehen durch Mikroorganismen gebildete alkalische Spaltprodukte, die als Puffer wirken und ein Ansteigen des p_H-Wertes bedingen. Die Autoren

stellten auch einen Zusammenhang zwischen dem Anfangs-p_H-Wert des Brätes und dem End-p_H-Wert fertiggereifter Würste fest: Würste mit höherem Anfangs-p_H-Wert des Brätes hatten in der Regel auch höhere End-p_H-Werte.

Unter dem Einfluß der Säuren sinkt der p_H-Wert während der Reifung von etwa 6,0 auf 5,0 (84). Bei fertigen, naturgereiften Rohwürsten beträgt er ca. 5,3; der p_H-Wert von schnellgereiften Würsten liegt etwas niedriger (74, 75, 89). Bei der Reifung italienischer Salami wurde zunächst ein Absinken des p_H-Wertes auf 5,3 und dann ein Ansteigen beobachtet (128). Für jugoslawische Winter-Salami werden End-p_H-Werte von 5,8 (97) und 6,5 (30) angegeben. Erfolgte die Reifung bei niederen Temperaturen (12°C), dann wurden relativ hohe p_H-Werte (6,35) festgestellt (62, 78). Für ungarische Salami wurden während der Reifung folgende p_H-Werte gemessen: Anfangswert 5,94, nach 10 Tagen 5,4, nach 45 Tagen 6,10 und nach 100 Tagen 6,75 (67).

Die Qualität einer Rohwurst hängt also entscheidend von der bakteriellen Zuckerfermentation und damit der Erhöhung der Wasserstoffionenkonzentration während der Reifung ab:

1) Der isoelektrische Punkt der Fleischproteine liegt zwischen p_H 5,1 und 5,5. Wird dieser Bereich der Wasserstoffionenkonzentration erreicht, dann erfolgt Gelverfestigung (70). Das zwischen Muskel- und Speckteilchen eingelagerte lösliche Muskeleiweiß unterliegt bei p_H-Senkung ebenfalls der Gelverfestigung und kittet dabei die heterogenen Teilchen aneinander (69, 70). Risse treten auf, wenn zwischen Muskel- und Speckpartikeln zu wenig aktiviertes Muskeleiweiß eingebettet ist. Zu rasche Säuerung und zu großer Speckgehalt sind oft Ursachen schlechter Bindung.

2) Auch für die Bildung von Aromastoffen kommt dem Zuckerabbau durch Keime große Bedeutung zu (12, 61, 62, 79, 127, 128). Nach 10 Tagen soll jedoch eine Verminderung der bei der Zucker-

fermentation gebildeten Säuren eintreten (93).

3) Der in den nächsten Abschnitten eingehend zu behandelnde Prozeß der Umrötung ist entscheidend vom p_H-Wert der Rohwürste abhängig.

II. NATÜRLICHE FARBSTOFFE DER MUSKULATUR, INSBESONDERE MYOGLOBIN UND HÄMOGLOBIN

Nach SHENK, HALL und KING (104) sind in 100 g Rindermuskeln 332 - 454 mg Myoglobin enthalten. Dies sollen 89,5 - 96,75 % der Gesamtmuskelpigmente sein. Der Rest (3,25 - 10,5 %) soll aus Hämoglobin bestehen. GINGER (29) gibt 370 mg Myoglobin/100 g Rindermuskel an. Der Autor fand in heller Muskulatur von Schweinen 79 mg, in dunkler 144 mg Myoglobin/100 g Muskelfleisch.

Nach BROUHAND, BALL und STIER (9) verhalten sich die Myoglobingehalte von Rind-, Hammel-, Schweine- und Kalbfleisch wie 7:4:2:1. Da Rohwürste aus Schweine- und Rindermuskulatur, Speck und farblosen Zusätzen hergestellt werden, bestehen die Pigmente des Ausgangsproduktes zu 90 % aus Myoglobin. Zu einem geringeren Teil (3 - 10 %) trägt Hämoglobin zur Rotfärbung bei; chromophore Gruppen tragende Fermente können vernachlässigt werden (29, 104).

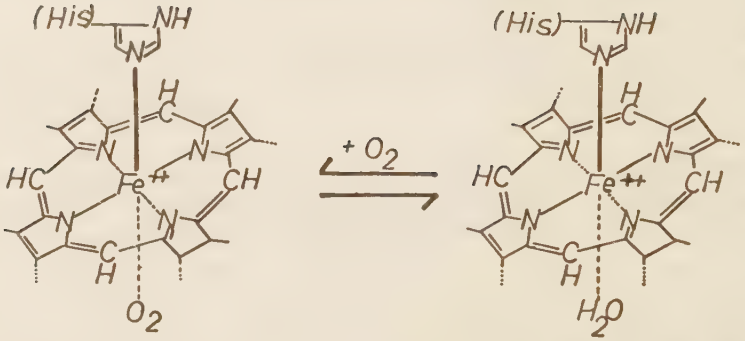
Schon vor der Darstellung des Myoglobins durch THEORELL (116) haben HEKTOEN und Mitarb. (44) mittels serologischer, KENNEDY und WHIPPLE (64) sowie RAY und PAFF (98) auf Grund spektralanalytischer Untersuchungen einen besonderen Muskelfarbstoff vermutet. Besonders THEORELL (116, 117) und MILLIKAN (80) haben dann später auf die Unterschiede von Myoglobin und Hämoglobin hingewiesen. Beide Farbstoffe, obgleich chemisch sehr verwandt, unterscheiden sich wesentlich in ihren chemisch-physikalischen Eigenschaften, wie aus folgender Tabelle zu ersehen ist:

	Myoglobin	Hämoglobin	Literatur
Molekulargewicht	17 500	68 000	116
Isoelektrischer Punkt bei p_H	6,99	6,78	116
λmax. der oxygenierten Form (Fe^{++}) im sichtbaren Spektralbereich	543/582 mμ	542/577 mμ	104
Eisengehalt	1 Grammatom/ Mol	4 Grammatom/ Mol	78
Bohr-Effekt	gering	groß	78
Dissoziationskurve	hyperbol.	sigmoid	45
Oxygenierungs- und Oxydationsvermögen	stark	schwach	45, 116
Reversible Denaturierbarkeit der Eiweißkette	?	ist möglich	2, 81

Beiden Chromoproteiden ist jedoch die farbgebende Gruppe, das Häm gemeinsam.

Das Hämoglobin ist eines der wenigen Chromoproteide, deren Proteinstruktur durch Röntgenstrukturanalyse von PERUTZ und Mitarb. (91) aufgeklärt werden konnte. Das Hämoglobinmolekül besteht aus 4 Hämmolekülen, von denen je zwei identisch sind, und dem Proteinanteil. Das Myoglobin dagegen enthält nur ein Hämmolekül und den Proteinanteil.

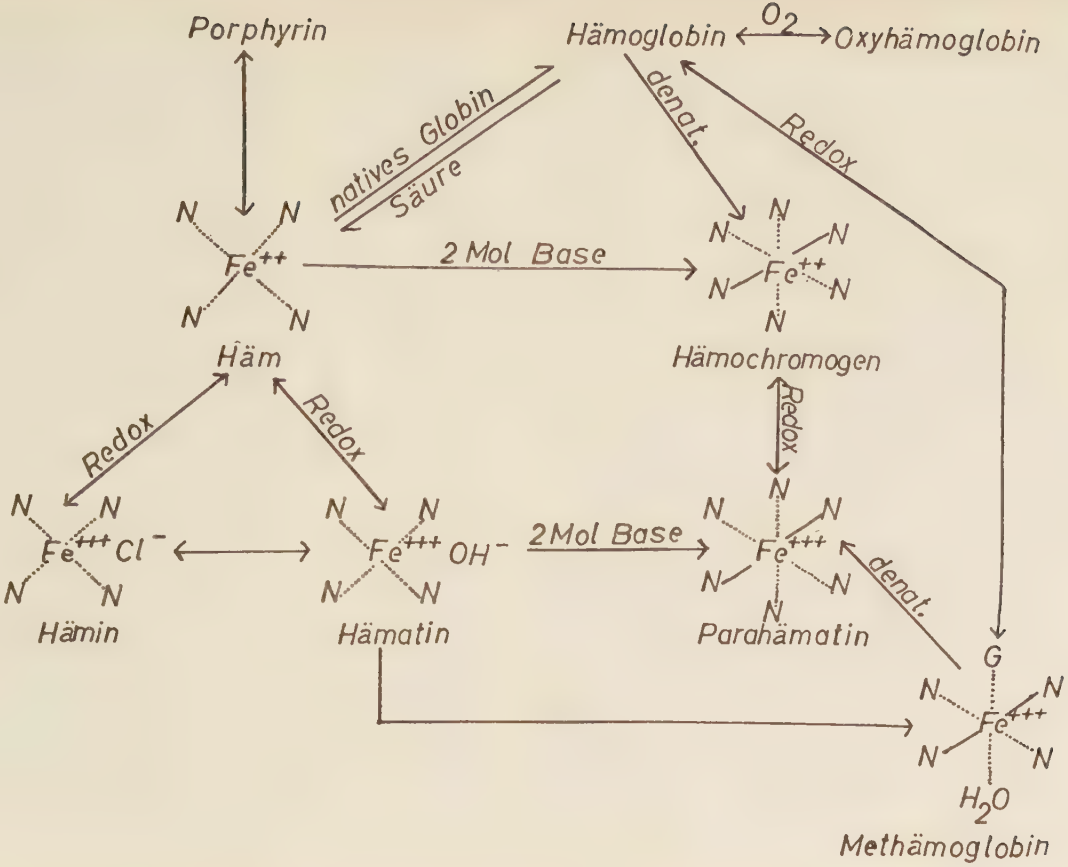
Beim Hämoglobin wird die fünfte Koordinationsstelle durch ein histidinreiches Globin besetzt. An die sechste Koordinationsstelle kann der Sauerstoff gebunden werden und es entsteht dann das Oxyhämoglobin (HbO_2). Der Sauerstoff wird in sauerstoffarmem Gewebe leicht wieder abgespalten und wahrscheinlich gegen Wasser ausgetauscht, wobei die Wertigkeit des Eisens unverändert bleibt (39).



Oxyhämoglobin Hämoglobin

Auch beim Myoglobin ist durch Röntgenstrukturuntersuchungen von KENDREW und Mitarb. (63) die Anordnung der Peptidketten im Raum bekannt. Aus der Struktur des Muskelfarbstoffes folgt die nahe Verwandtschaft zum Hämoglobin. Das Myoglobin ist zwischen p_H 5,5 und 13 stabil und gut kristallisierbar (116). Nach HILL (45) ist die Affinität zu Sauerstoff etwa 6 mal so groß wie die von Hämoglobin. Die "Oxy-Muskelhämoglobinverbindung" (Oxymyoglobin) ist jedoch leichter dissoziierbar als die von Oxyhämoglobin.

Die Farbstoffe Hämoglobin und Myoglobin sind während der Rohwurstreifung biochemischen und bakteriellen Einflüssen ausgesetzt. Zur Verdeutlichung der etwas schwierigen Nomenklatur der Porphyrine soll zunächst folgendes Schema angeführt werden (39):


Porphyrin
Hämoglobin
O2
Oxyhämoglobin
natives Globin
Säure
denat.
Redox
2 Mol Base
Häm
Hämochromogen
Redox
Redox
Redox
2Mol Base
denat.
Hämin
Hämatin
Parahämatin
G
H2O
Methämoglobin

III. DERIVATE VON MYOGLOBIN UND HÄMOGLOBIN

1. S a u e r s t o f f v e r b i n d u n g e n :

Wie bereits im letzten Kapitel gezeigt wurde, kann Sauerstoff von Myoglobin (Mb) und Hämoglobin (Hb) gebunden werden, ohne daß das 2-wertige Eisen zum 3-wertigen oxydiert wird. Diesen Vorgang nennt man Oxygenierung. Frisches Fleisch ist oberflächlich durch Oxymyoglobin (MbO_2) hellrot, im Innern durch Myoglobin purpurrot (123). Bei hoher Sauerstoffspannung bildet sich nach FOX (24) stets Oxymyoglobin.

Bei niederer Sauerstoffspannung entsteht braunes oxydiertes Myoglobin (Metmyoglobin (MbO)). Die Bildung von Metmyoglobin wird nach BROWN und TAPPEL (11) durch eine Desoxygenierung von Oxymyoglobin eingeleitet. Metmyoglobin tritt besonders nach Behandlungsfehlern von Fleisch und bei gekochtem Fleisch auf.

2. S t i c k o x y d v e r b i n d u n g e n :

a) Stickoxydverbindungen des Hämoglobins:

Für die Umrötung von Rohwurst sind besonders die Nitrosoderivate der im Muskel enthaltenen Porphyrinfarbstoffe wichtig. Bereits 1899 glaubte KISSKALT (66), die Rötung des Fleisches werde durch Nitrit verursacht. Nitrat röte dagegen nur, wenn es längere Zeit auf Fleisch einwirke. Zu dieser Zeit glaubte man noch, daß der Farbstoff des Blutes und der der Muskulatur identisch seien. Als erster hielt HALDANE (36) daher den Pökelfarbstoff für Stickoxydhämoglobin. HOAGLAND (46, 47) erkannte dann Stickstoffoxyd (NO) als eigentliches Agens zur Bildung des roten Farbstoffes in gepökelten Fleischwaren.

Nach HAUROWITZ (42) entsteht bei der Einwirkung von NO auf Hämoglobin unter Sauerstoffausschluß oder auf Kohlenoxyd-Hämoglobin NO-Hämoglobin. Nach KEILIN und HARTREE (58) reagiert NO sowohl mit Methämoglobin als auch mit Hämoglobin.

BROOKS (7, 8) ließ gleichzeitig Nitrit und ein reduzierendes Agens auf Hämoglobin einwirken, wobei Methämoglobin als Zwischenprodukt nicht nachgewiesen werden konnte. Das p_H-Optimum dieser Reaktion liegt zwischen p_H 5,15 und 6,63; im p_H-Bereich von 7,16 - 7,75 wird sie stark gehemmt. Im reduzierenden Medium verbindet sich Natriumnitrit mit Hämoglobin in stöchiometrischem Verhältnis (1:1) zu NO-Hämoglobin. In sauerstoffhaltiger Reaktionslösung reagiert Nitrit dagegen mit Hämoglobin nach folgendem Schema:

NO_2^- + 2 Hämoglobin ⟶ NO-Hämoglobin + Methämoglobin

GREENBERG, LESTER und HAGGARD (34) konnten diese Ergebnisse bestätigen. URBAIN und JENSEN (118) stellten fest, daß die Oxydation von NO-Hämoglobin durch atmosphärischen Sauerstoff in der Wärme beschleunigt, mit steigendem p_H-Wert jedoch verzögert wird.

b) Stickoxydverbindungen des Myoglobins:

Die Pökelfarbstoffe gehören zur Farbstoffklasse der Hämochromogene. Unter "Hämochromogen", ursprünglich von HOPPE-SEYLER (48) für den Chromophor des Hämoglobins eingeführt, versteht man heute nach SIEDEL (105) Verbindungen, die durch Reaktion des in Hämen komplexgebundenen Eisenatoms mit basischen Stickstoffmolekülen (z.B. Ammoniak, Heterocyclen und deren Derivate wie Pyridin, Piperidin, Imidazol) entstehen.

Während des Reifungsprozesses findet nach NIINIVAARA (84) eine Bildung von Metmyoglobin und Nitrosomyoglobin statt; Nitrosomyoglobin bildet sich jedoch nur im Anfangsstadium und geht nach Denaturierung des Globinanteils in Nitrosomyochromogen über. Die Löslichkeit von Myoglobin und NO-Myoglobin ist größer als diejenige des NO-Myochromogens.

HAMM (37, 38) gibt eine Zusammenstellung über die chemischen Veränderungen des Myoglobins bei der Pökelung und stellt fest, daß Stickoxydmyoglobin stabiler als Myoglobin oder Oxymyoglobin ist.

d) Nitrosomyoglobin und Nitrosomyochromogen

Nach WATTS (123) entsteht der Pökelfarbstoff direkt durch Reaktion von Myoglobin mit Stickoxyd:

$$NO + \text{Myoglobin} \longrightarrow \text{Nitrosomyoglobin}$$

Nitrit soll mit Oxymyoglobin nach folgender Gleichung reagieren:

$$NO_2^- + 2\ MbO_2 \longrightarrow NO_3^- + Mb_2O + O_2$$

JONES (55) meint, daß das gesamte Myoglobin zu Nitrosomyoglobin umgewandelt werden kann. Dagegen stellte HORNSEY (51) fest, daß in rohem Bacon höchstens 50 % der Porphyrinfarbstoffe als Nitrosomyoglobinverbindungen vorliegen. Zur Identifikation dieser Farbstoffe werden die Lichtabsorptionsspektren verwendet. Nach GINGER und SCHWEIGERT (28) liegen die Maxima dieser Absorptionsspektren für Nitrosomyoglobin bei 544 und 575 mμ; KIESE und KAESKE (65) fanden Maxima bei 544 und 584 mμ.

Während Nitrosomyoglobin mit Wasser extrahiert werden kann, läßt sich Nitrosomyochromogen nur mit organischen Lösungs-

mitteln extrahieren. HORNSEY (49) erhielt bei der Messung der Lichtabsorption von Nitrosomyochromogen in Aceton-Wasser Maxima bei 476, 535 und 563 mμ. Nur das Maximum bei 535 mμ wurde sowohl von HORNSEY (49) als auch von NIINIVAARA (84) gefunden. MÖHLER (82) erklärt sich diese Diskrepanz durch Oxydationsprozesse infolge Sauerstoff- und Lichteinwirkung während der Extraktion.

In erhitzten umgeröteten Fleischwaren liegt praktisch nur Nitrosomyochromogen vor. Dagegen besteht der Farbstoff des rohen umgeröteten Fleisches aus Nitrosomyoglobin und Nitrosomyochromogen, wobei der Gehalt der Einzelkomponenten stark schwankt (115).

β) Einfluß von Reduktionsmitteln auf die Nitrosomyochromogenbildung:

SIEDLER und SCHWEIGERT (106) untersuchten den Einfluß von Reduktionsmitteln auf die Nitrosomyochromogenbildung. Sie fanden, daß Ascorbat die Bildung des Nitrosofarbstoffes am stärksten beschleunigte; schwächer wirkten Cystein und Dithionit.

Auch FOX (24) stellte fest, daß Ascorbat auf die Bildung von Nitrosomyoglobin aus Myoglobin stärker wirkt als Cystein, kombiniert wirken diese zwei Verbindungen synergistisch. Die Bildung von Nitrosomyoglobin aus Metmyoglobin wird dagegen allein durch Ascorbat beschleunigt. Die Reaktion mit Ascorbat bzw. Cystein ist dabei nicht vom p_H-Wert abhängig, das bereits gebildete Nitrosomyoglobin ist jedoch bei höheren p_H-Werten stabiler. Die Wirkung der Ascorbinsäure bzw. von Ascorbat beruht auf der Reduktion von salpetriger Säure zu NO nach folgender Gleichung:

$$2\ HNO_2 + C_6H_8O_6 \longrightarrow 2\ NO + 2\ H_2O + C_6H_6O_6 \quad (33)$$

Wie INGRAM (52) feststellte, bleiben bei der Umrötung mit Nitritpökelsalz ohne Anwendung von Ascorbinsäure noch kleine Reste von Nitrit ungenützt in der Wurstmasse, während bei Anwesenheit von Ascorbinsäure das gesamte Nitrit abgebaut und zur Umrötung aktiviert wird. Auch nach SINELL (107), KELCH und HEIDTMANN (60) sowie ESAU (22) wirkt sich Ascorbinsäure begünstigend auf Farbentwicklung und Farbhaltung aus. Nach ESAU (22) liegt der Nachteil der Ascorbinsäureanwendung in der leichten Oxydierbarkeit.

Zur Verdeutlichung sollen die Vorgänge beim Pökeln durch folgende Reaktionsgleichungen schematisch dargestellt werden (37):

$$KNO_3 \xrightarrow[\text{Bakterien}]{\text{reduzierende}} KNO_2$$

Nitrat — Nitrit

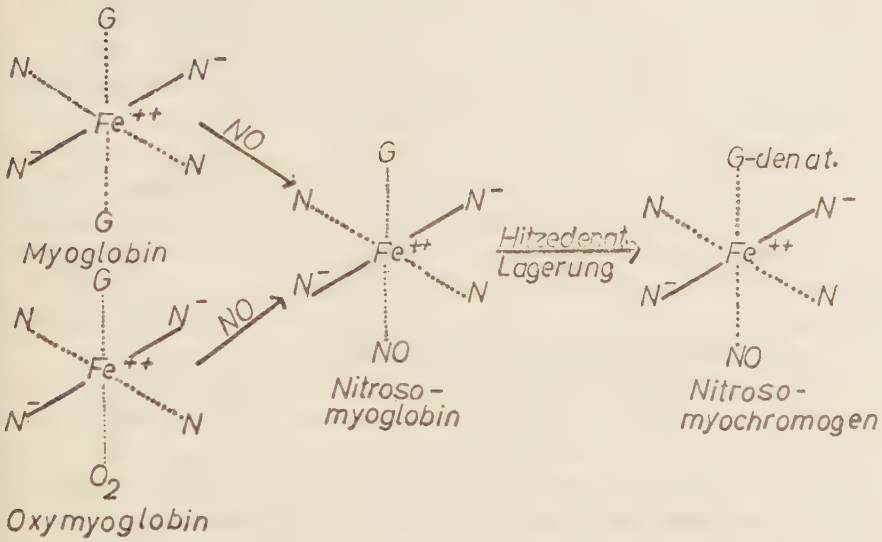
$$KNO_2 \xrightarrow{\text{niedriges } p_H} HNO_2$$

Nitrit — salpetrige Säure

$$HNO_2 \xrightarrow[\text{Bakterien und Zuckern}]{\text{reduzierende Wirkung von}} NO$$

salpetrige Säure — Stickstoffoxyd

Das Stickstoffoxyd wird von Myoglobin bzw. Oxymyoglobin unter Bildung von Nitrosomyoglobin angelagert. Durch Denaturierung des Proteinanteils infolge Alterung oder Erhitzung entsteht aus dem labilen Nitrosomyoglobin das stabile Nitrosomyochromogen (10).



γ) Stabilität der Pökelfarbstoffe:

Da Farbbildung und Farbhaltung in Fleischwaren von großer Bedeutung sind, soll im folgenden Abschnitt auf die Stabilität der Pökelfarbstoffe Nitrosomyoglobin und Nitrosomyochromogen näher eingegangen werden. Verschiedene Faktoren, wie hohe Wasserstoffionenkonzentration, freie Sulfhydrylgruppen, Hitze, Säuren, Salze und Anwesenheit hämochromogenbildender Gruppen sind sehr maßgebend für die Stabilität des Pökelrots.

Nach GRAU und BÖHM (5, 31, 32, 33) soll im Gegensatz zu FOX (24) die Farbhaltung bei niederen p_H-Werten besser sein als bei geringer Wasserstoffionenkonzentration. Die geringste Stabilität von Nitrosomyoglobin wurde von ihnen im p_H-Bereich von 5,7 bis 6,2 festgestellt. Zur Veränderung des p_H-Wertes verwendeten die Autoren verschiedene organische Säuren.

WATTS und Mitarbeiter (21, 124) stellten fest, daß freie

Sulfhydrylgruppen sowohl die Bildung als auch die Stabilität des Pökelrots beeinflussen. Auch HORNSEY (50) wies nach, daß die Menge freier SH-Gruppen von Cystein in Muskelproteinen entscheidend für die Farbstabilität von gekochtem Schweinefleisch ist. Proteindenaturierende Faktoren, wie Hitze, Gefrieren, Säuren, Salze, UV-Licht und gewisse Metalle begünstigen die Bildung von Stickoxydderivaten (125, 126) und verbessern dadurch Umrötung und Stabilität der Pökelfarbstoffe.

Für die Farbhaltung von Rohwürsten könnten neben den Verbindungen mit Stickoxyd auch die Reaktionen von Myoglobin mit anderen hämochromogenbildenden Gruppen (z.B. NH_3) von Bedeutung sein. Darauf wird besonders von NIINIVAARA (84) und PEZACKI (92) hingewiesen. Nach KIESE und KAESKE (65) soll die Hämochromogenbildung von Myoglobin neben der mit Stickoxyd auch sehr leicht mit denaturierten Proteinen, Nicotinamid und Histidin erfolgen. Da Nicotinsäure im Fleisch reichlich vorkommt, wird vermutet (115), daß denaturiertes Globin-Nicotinamid-Hämochromogen zur Pigmentierung und Stabilisierung umgeröteter Fleischpartikel beitragen kann.

Nach BROWN und TAPPEL (11) dagegen sind Histidin und Nicotinamid nur schlechte Hämochromogenbildner, weil ihre Additionsprodukte sehr leicht der Oxydation unterliegen.

IV. EINFLUSS VON FETTABBAUPRODUKTEN AUF DIE FARBSTOFFE DER ROHWURST

Mit zunehmender Ranzigkeit werden Pökelfarbstoffe abgebaut (123), deshalb soll auf die hierfür in Frage kommenden Faktoren näher eingegangen werden. (Wegen des Nachweises der mikrobiell bedingten hydrolytischen Fettspaltung wird auf SCHULZE (103) verwiesen).

Nach WATTS (123) entsteht Ranzigkeit bei Fleisch und Fleisch-

waren durch eine oxydative Zersetzung der im Fett vorhandenen ungesättigten Fettsäuren, wobei die Peroxydbildung einen wichtigen Schritt darstellt. Die sehr unbeständigen Peroxyde zerfallen mit fortschreitender Oxydation in andere Verbindungen, wobei Ketone und Aldehyde entstehen.

CHANG und WATTS (15) stellten fest, daß die Ranzigkeit vor allem vom Gehalt der Fette an ungesättigten Fettsäuren abhängig ist. So wird z.B. Hühnerfett schneller ranzig als Schweinefett, Rindertalg und Hammelfett. Daneben können noch andere originär im Fleisch und Fett enthaltene Verbindungen die Ranzigkeit fördernd oder hemmend beeinflussen. So wirken die im Muskel vorhandenen Farbstoffe auf ungesättigte Fettsäuren stark prooxydativ, einige Vitamine antioxydativ.

Durch Hämoglobin, Methämoglobin und Hämin wird z.B. die Oxydation von Leinsamenöl katalysiert (101). Auch KAUFMANN (56) zeigte, daß Hämin, Hämoglobin und Cytochrom c eine prooxydative Wirkung bei der Autoxydation von Linolsäure in wäßriger Emulsion im Bereich von p_H 6 - 9 bei 37°C zeigen; in der Nähe des physiologischen p_H-Wertes des Blutes konnte er jedoch vor allem durch Hämoglobin und Cytochrom c eine antioxydative Wirkung nachweisen. Diese Wirkungsinversion kann durch Änderung der Konzentrationsverhältnisse von Substrat und vorhandenen Katalysatoren erfolgen, aber auch durch Änderungen von Milieubedingungen, wie Art des Lösungsmittels, p_H-Wert, Temperatur usw.

Denaturiertes Myoglobin und Hämoglobin wirken jedoch nach CHANG und WATTS (16) nicht mehr prooxydativ, da die prosthetische Gruppe des aktiven Katalysators, des Eisenporphyrins, durch Denaturierung unlöslich geworden ist.

Weil reine Myoglobinlösungen die Fettoxydation nicht so stark katalysierten wie Muskelextrakte, kam TAPPEL (110) zu der Ansicht, daß noch andere Stoffe wirksam sein könnten.

Neben der Oxydation der ungesättigten Fettsäuren wird nach

TAPPEL (111) auch ein Teil des Hämins oxydiert und Eisen freigesetzt. Auch WATTS (123) stellte fest, daß neben der Oxydation der Fettsäuren auch eine Oxydation der Hämverbindungen stattfindet. Nach HAUROWITZ und Mitarb. (43) wird der Chromophor während seiner Reaktion mit den ungesättigten Fettsäuren zerstört. Fleischwaren, in denen das Eisen der Muskelfarbstoffverbindungen, deren Proteinanteile denaturiert sind, dreiwertig vorliegt, werden schneller ranzig, als Fleischwaren, in denen das Eisen der Muskelfarbstoffverbindungen zweiwertig vorliegt.

Das durch oxydativen Abbau der Porphyrinringe in der Rohwurst freigewordene Eisen hat nach LEA (72) die Fähigkeit, die Oxydation von Fetten zu beschleunigen. Auch andere Metalle wie Zink, Vanadium, Kupfer, Kobalt und Mangan sind gute Oxydationskatalysatoren, jedoch in Fleischwaren nur in ganz geringen Mengen vorhanden. Liegen die Metalle als Komplexsalze vor, so ist ihre ranzigkeitsfördernde Wirkung aufgehoben.

Licht fördert nach WATTS (123) in Fleischwaren sowohl die Oxydation der ungesättigten Fettsäuren als auch die Oxydation der Muskelfarbstoffverbindungen. Die Oxydation der Fette läuft nach Lichteinwirkung auch dann noch weiter, wenn die Belichtung bereits beendet ist.

Auch mit steigender Temperatur nimmt die Oxydation der Fette erheblich zu; eine Temperaturerhöhung von 10°C verdoppelt die Oxydationsrate (72).

Räuchern erhöht dagegen nach WATTS (123) die Widerstandsfähigkeit von Fleischwaren gegen das Ranzigwerden. JENSEN (53) konnte aus dem Rauch eine Reihe verschiedener Verbindungen isolieren, darunter auch phenolische Substanzen, die wahrscheinlich für die antioxydative Wirkung verantwortlich sind. KURKO (71) hält die antioxydativen Wirkstoffe im Rauch für Phenolverbindungen; die stärkste oxydationshemmende Wirkung fand er bei den hochsiedenden Fraktionen, die

vor allem aus Methyläthern des Pyrogallols und seiner Homologen bestehen.

Wie bereits unter Kapitel I,2 dargelegt wurde, spielen Keime bei der Rohwurstreifung eine wesentliche Rolle. Fettsäuren mit Doppelbindungen werden von Bakterien am leichtesten abgebaut (35), wobei nach CASTELL und GARRARD (13) alle gramnegativen Keime stark oxydierend wirken. Fettspaltende Stäbchen wurden von NIINIVAARA und POHJA (85) isoliert. In umfangreichen Untersuchungen stellte TERPLAN (115) fest, daß von 42 innerhalb der ersten 10 Reifungstage aus Rohwürsten isolierten Stämmen 34 Fett spalteten, wobei die stärkste Lipolyse bei den gramnegativen Keimen festzustellen war. TEN CATE (114) fand bei Untersuchung der Fette von Rohwurst während der Reifungsperiode eine linear verlaufende Fettsäurespaltung. Da die Lactobazillen der Rohwurst keine Lipasen bilden, schreibt er die Fetthydrolyse den Lipasen der Anfangsflora zu, die selbst nach etwa 3 Tagen aus der Rohwurst verschwindet, deren Lipasen jedoch in voller Stärke nachwirken.

Bei folgenden Bakterienarten wurde Lipasebildung festgestellt (95): Pseudomonas, Achromobacter, Alcaligenes, Serratia, Proteus, Bacillus, Clostridium und Micrococcus. Das Lipasebildungsvermögen und die Lipaseaktivität dieser Bakterien sind stark vom p_H-Wert der Wurstmasse, von der Salzkonzentration und von der Reifungstemperatur der Wurst abhängig.

Der erste Schritt des mikrobiellen Fettabbaus ist die Hydrolyse der Glyceride in freie Fettsäuren und Glycerin (83). Daran schließt sich sofort die Oxydation der niederen gesättigten und der ungesättigten Fettsäuren durch Lipoxydasen, die Entsättigung der gesättigten Fettsäuren durch Dehydrogenasen und nachfolgend die Oxydation der dabei entstehenden ungesättigten Fettsäuren zu Peroxyden an. Danach erfolgt die Spaltung der Peroxyde durch Peroxydasen in Aldehyde und Ketone.

V. ROTER FETTLÖSLICHER FARBSTOFF IN ROHWÜRSTEN

Schon 1934 haben NOETZEL und PAWLETTA (90) in "zubereiteten Fleischwaren" eine Rotverfärbung des Specks beobachtet. Die beiden Autoren untersuchten ein fein gemahlenes Wurstgut aus Schweinefleisch, Rindfleisch und Speck, dem 2 bis 3 % Pökelsalz und Gewürze zugesetzt waren. Bereits 5 Tage nach der Pökelung färbte sich der Speck schwach rosa. Durch folgende Reaktionen, die bei Carotinoiden nicht auftreten, versuchten NOETZEL und PAWLETTA (90) zu beweisen, daß es sich bei dem roten, fettlöslichen Farbstoff nicht um Carotinoide handeln kann:

1) Oxydative Gelbfärbung an der Luft: peroxydhaltige Äther und ranzige Fette hatten entfärbende Wirkung.
2) Graugrünverfärbung mit Ammoniumsulfid
3) In der Asche von rotem Fett konnten 0,3 bis 0,4 mg Eisen/100 g Wurstmasse nachgewiesen werden, die Kontrollproben dagegen waren eisenfrei.
4) Das Spektrum der roten Fettlösung hatte eine Absorptionsbande bei 567 bis 584 mμ.

Die Autoren schließen aus der Ähnlichkeit dieses Spektrums mit dem von Oxyhämoglobin, daß beide Farbstoffe vielleicht identisch sind. Außerdem glauben NOETZEL und PAWLETTA (90), daß zur Bildung des roten fettlöslichen Farbstoffes eine Pökelung des Fleisches nicht notwendig ist. Allerdings seien die Farbtöne des ausgeschmolzenen Fettes dann nicht so intensiv wie nach Einwirkung von Pökelsalz.

Da in faulen Rohwürsten Porphyrine festgestellt werden können (99, 102, 114, 120, 121, 122), wäre eine Rotfärbung des Specks auch durch diese Farbstoffklasse denkbar.

Auch MAYER (77) berichtete über einen fettlöslichen Farbstoff in Rohwürsten, der jedoch nicht eine Verbindung von Stickoxyd mit Myoglobin darstellt, sondern durch mikrobiellen

Abbau des Muskelfarbstoffes entstehen soll.

Nach BARTELS und CORETTI (3) tritt die Rotverfärbung des Specks in Rohwürsten sowohl bei frischen als auch besonders bei stark überlagerten Rohwürsten auf.

C. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

I ZUR ROTVERFÄRBUNG DES SPECKS IN ROHWÜRSTEN

1. Material

In einer Fleischwarenfabrik wurden nach folgender Rezeptur Rohwürste hergestellt:

42 kg Rindfleisch wie gewachsen,
16 kg Schweinefleisch wie gewachsen,
34 kg Speck,
3 kg Nierentalg, 3200 g Nitritpökelsalz, 300 g weißer Pfeffer und 30 g Knoblauch.

Das Wurstgut wurde in Naturdärme vom Kaliber 60 mm abgefüllt. Die Reifung der Rohwürste erfolgte a) im Schnellverfahren und b) im Naturverfahren:

a) Schnellverfahren (Charge I): 72 Stunden Lagerung bei 22°C und 95 % relativer Luftfeuchtigkeit, 8 Tage lang Kalträucherung, anschließend Aufbewahrung in einem dunklen Raum bei 18 - 20°C.

b) Naturverfahren (Charge II): 30 Tage Lagerung bei 12°C und 90 % relativer Luftfeuchtigkeit, anschließend Aufbewahrung in einem dunklen Raum bei 18 - 20°C.

2. Methodik

Während einer Reifungs- und Lagerungszeit von 114 Tagen wurden das Wurstgut am Tage der Anfertigung, die Würste 7, 13, 21, 27, 33, 42, 53, 62, 69, 83, 97, 107 und 114 Tage

später untersucht. Dabei wurden Wassergehalt, die Säure-, Jod- und Peroxydzahl des Fettes, p_H-Wert, Gesamthämatingehalt, Nitrosomyochromogengehalt und Gehalt an fettlöslichem rotem Farbstoff bestimmt.

Für die angeführten Untersuchungen wurde jeweils das Mittelstück aus einer Wurst entnommen und zweimal im Fleischwolf zerkleinert. Bei sämtlichen Untersuchungen wurden Doppelbestimmungen durchgeführt.

Zur Untersuchung der Fettranzigkeit wurden jeweils ca. 100 g zerkleinertes Wurstgut in einen 500 ml Standkolben gewogen und dazu 500 ml Petroläther (Siedepunkt 64 - 66°C) gegeben. Das Gemisch wurde 12 Stunden unter mehrmaligem Schütteln bei Zimmertemperatur stehengelassen. Die überstehende Flüssigkeit wurde vom Unlöslichen filtriert und die Extraktionslösung bei 30° C im Vacuumrotationsverdampfer vom Fett getrennt. Das extrahierte Fett wurde mit Hilfe der oben angeführten Fettkennzahlen auf Ranzigkeit untersucht.

a) p_H-Wert

Der p_H-Wert der Rohwürste wird mit geeichter Glaselektrode bestimmt. Als Meßinstrument dient ein Gerät der Firma Pusl, München. Zur Messung wird die Glaselektrode 2 - 3 cm tief in die homogenisierte Wurstmasse eingelassen. Von 10 Messungen (jeweils eine Minute) wird der Mittelwert genommen.

b) Wasserbestimmung nach BEYTHIEN-DIEMAIR (4)

10 g des homogenisierten Wurstgutes werden in ein Porzellanschälchen eingewogen und mit Seesand innig verrieben. Anschließend wird 12 Stunden lang bei 120°C getrocknet. Aus den Gewichtsdifferenzen wird der prozentuale Wassergehalt der Proben bestimmt.

c) Säurezahl (SZ)-Bestimmung nach BÖMER und GROSSFELD (6)

Die Säurezahl gibt die Anzahl mg KOH an, die notwendig ist, um die in 1 g Fett enthaltenen freien organischen Säuren, berechnet als Ölsäure, zu neutralisieren.

Ein mit einigen Tropfen Phenolphtalein-Lösung versetztes Alkohol-Äther-Gemisch (1 : 1) wird bis zum Farbumschlag mit 0,1 n alkoholischer KOH titriert; mit 100 ml dieser Lösung wird das Fett gelöst und anschließend wird auf den vorherigen Farbton rücktitriert. Der Endpunkt der Titration ist erreicht, wenn die Rotfärbung der Lösung einige Sekunden anhält.

d) Jodzahl (JZ) nach HANUS (41)

Die Jodzahl, als Maß für den Gehalt eines Fettes an Doppelbindungen, gibt die Teile Halogen, berechnet als g Jod an, die durch 100 g Fett gebunden werden.

Genau 1 g Fett wird in einen 250 ml Schliffkolben gewogen und in 10 ml Chloroform gelöst, mit 25 ml Hanus-Reagenz versetzt, zugestopft, leicht umgeschwenkt und eine Stunde bei Dunkelheit aufbewahrt; danach werden 20 ml 10 %ige Kaliumjodid-Lösung und 100 ml Aqua dest. hinzugefügt und mit 0,1 n Natriumthiosulfat-Lösung unter Zusatz von Stärkelösung titriert; gleichzeitig wurde ein Blindversuch durchgeführt.

e) Peroxydzahl (POZ) nach LEA (4)

Die Peroxydzahl gibt die Anzahl ml 0,002 n-Natriumthiosulfat-Lösung an, die der durch die Peroxyde von 1 g Fett ausgeschiedenen Menge Jod äquivalent sind. 1 ml 0,002 n-$Na_2S_2O_3$-Lösung entspricht 16 γ Sauerstoff.

Genau 1 g Fett wird in einem 250 ml Erlenmeyerkolben einge-

wogen; 20 ml eines Gemisches von Eisessig/Chloroform (2 :1) und eine Spatelspitze feingepulverten Kalimjodids werden hinzugefügt; der Kolben wird solange im kochenden Wasserbad belassen, bis die schweren Chloroformdämpfe über den Kolbenrand steigen; der verschlossene Kolben wird unter Leitungswasser gekühlt; nach Zugabe von 25 ml einer 1 %igen Kaliumjodidlösung und einigen Tropfen einer 1 %igen Stärkelösung wird mit 0,002 n-Natriumthiosulfat titriert. In gleicher Weise wird ein Blindversuch durchgeführt.

f) Gesamthämatinbestimmung nach HORNSEY (49), modifiziert nach MÖHLER (82)

Bei dieser Bestimmung werden durch Zusatz von konzentrierter Salzsäure sämtliche Chromoproteide in die Met-Hämatin-Derivate überführt, wobei das zentrale Eisenatom von Fe^{++} in Fe^{+++} übergeht.

10 g homogenes Wurstgut werden in einen 100 ml Standkolben gewogen und mit 43 ml eines Aceton-Wasser-Salzsäure-Gemisches (40 : 2 : 1) versetzt und 6 Stunden im Dunkeln stehen gelassen. Dann wird filtriert und im Spektralphotometer bei einer Wellenlänge von 640 mμ mit einer 1 cm Küvette gegen eine entsprechende Blindprobe gemessen.

g) Nitrosomyochromogenbestimmung nach HORNSEY (49), modifiziert nach GANTNER (25)

Der Farbstoff von 10 g zerkleinertem Wurstgut wurde bei Rotlicht 20 Minuten lang mit Aceton-Wasser (100 : 7,5) extrahiert und danach filtriert. Vor der photometrischen Messung werden dem Filtrat 0,5 ml konzentrierter Salzsäure zugefügt, wodurch der vorhandene Nitroso-Häm-Aceton-Komplex in Hämatin-HCl übergeführt wird, das gegenüber Lichtstrahlen weitgehend unempfindlich ist. Im Spektralphotometer wird bei 540 mμ mit einer 1 cm Küvette gemessen.

h) Fettlöslicher roter Farbstoff

Für die Bestimmung des fettlöslichen roten Farbstoffes wurde folgende Versuchsanordnung ausgearbeitet:

100 g klein geschnittenes Wurstgut werden in einem 500 ml Becherglas 30 Minuten in ein siedendes Wasserbad gestellt. Dabei schmilzt das rötliche Fett aus der Wurst. Das noch flüssige Fett wird von den unschmelzbaren Resten abgegossen und in 100 ml Petroläther (Siedepunkt 64 - 66°C) gegeben. Die unlöslichen Bestandteile der rosa Lösung werden über ein Faltenfilter filtriert und der Petroläther vom Filtrat im Vacuumrotationsverdampfer abdestilliert.

10 g dieses rot gefärbten Fettes werden mit 42 ml eines Aceton-Wasser-konz.Salzsäure-Gemisches (40 : 2 : 1) im Dunkeln bei Zimmertemperatur versetzt. Man schüttelt kurz um, läßt das Reaktionsgemisch 20 Minuten stehen, filtriert vom Unlöslichen und gibt zu dem gelblich-roten Filtrat 1 ml Trichloräthylen. Gemessen wird im Spektralphotometer mit einer 1 cm Küvette bei 640 mμ.

3. E r g e b n i s s e

In Tabelle 1 - 5 sind die Ergebnisse der Wasserbestimmungen, der Säurezahl-, Jodzahl- und Peroxydzahlbestimmungen des Fettes sowie der Gesamthämatinbestimmungen zusammengestellt worden.

Die Ergebnisse der p_H-Wert-Bestimmungen, der Bestimmungen des Nitrosomyochromogengehaltes und des Gehaltes an fettlöslichem rotem Farbstoff wurden in den Abbildungen 1 - 3 graphisch dargestellt.

TABELLE 1

Wassergehalte von schnellgereiften (Charge I) und naturgereiften Rohwürsten (Charge II) in Abhängigkeit von der Lagerzeit.

Tage	Charge I	Charge II
0	41,2 %	41,2 %
2	40,3 %	40,3 %
7	33,0 %	36,0 %
13	28,6 %	34,3 %
21	25,2 %	29,5 %
27	20,7 %	28,2 %
33	19,7 %	25,5 %
42	18,6 %	24,9 %
53	15,6 %	19,6 %
62	14,0 %	17,5 %
69	12,4 %	14,8 %
83	11,7 %	14,4 %
97	11,0 %	13,7 %
107	10,7 %	13,2 %
114	9,5 %	12,4 %

Der Wassergehalt betrug in der Ausgangsmasse 41,2 % und verringerte sich bei den schnellgereiften Würsten nach 27 Tagen, bei den naturgereiften nach 53 Tagen auf ca. die Hälfte. Am 114. Tag nach der Herstellung betrug der Wassergehalt der schnellgereiften Würste nur noch 9,5 %, der der naturgereiften noch 12,4 %.

TABELLE 2

Säurezahlen von schnellgereiften (Charge I) und naturgereiften Rohwürsten (Charge II) in Abhängigkeit von der Lagerzeit.

Tage	Charge I	Charge II
0	3,4	3,0
7	5,8	5,5
13	7,2	7,5
21	8,6	9,8
27	9,7	11,3
33	10,59	12,4
42	11,6	13,7
53	12,8	15,2
62	13,7	16,18
69	14,3	16,8
83	15,2	18,1
97	16,5	19,15
107	17,3	20,0
114	17,8	20,6

Die Säurezahlen stiegen während der Reifung und Lagerung der Rohwürste stetig an. Am Ende des Versuches (nach 114 Tagen) lagen die Säurezahlen von Charge I bei 17,8, die von Charge II bei 20,6.

TABELLE 3

Jodzahlen von schnellgereiften (Charge I) und naturgereiften Rohwürsten (Charge II) in Abhängigkeit von der Lagerzeit.

Tage	Charge I	Charge II
0	54,56	53,71
7	53,69	53,29
13	53,9	53,8
21	53,4	53,6
27	53,6	53,8
33	53,4	53,5
42	52,5	52,8
53	52,9	52,7
62	52,05	52,3
69	52,64	52,7
83	52,29	52,4
97	52,0	52,2
107	52,04	52,07
114	52,6	52,1

Die Jodzahlen, die im Ausgangsmaterial bei 53,9 lagen, veränderten sich während der Reifung und Lagerung von 114 Tagen nur ganz geringfügig.

TABELLE 4

Peroxydzahlen von schnellgereiften (Charge I) und naturgereiften Rohwürsten (Charge II) in Abhängigkeit von der Lagerzeit.

Tage	Charge I	Charge II
0	0,9	0,9
7	1,01	1,8
13	1,08	1,97
21	1,12	2,25
27	1,23	2,56
33	1,3	3,2
42	1,65	4,02
53	2,1	4,98
62	2,35	5,7
69	2,7	6,35
83	3,18	7,7
97	3,7	8,9
107	4,1	9,92
114	4,75	10,6

Im Ausgangsmaterial betrug die Peroxydzahl 0,9. Bei Charge II erreichte die Peroxydzahl bereits nach 53 Tagen den von Charge I erst am Versuchsende erreichten Maximalwert von 4,75. Nach 114 Tagen waren die Peroxydzahlen von Charge II mehr als doppelt so hoch wie die von Charge I.

TABELLE 5

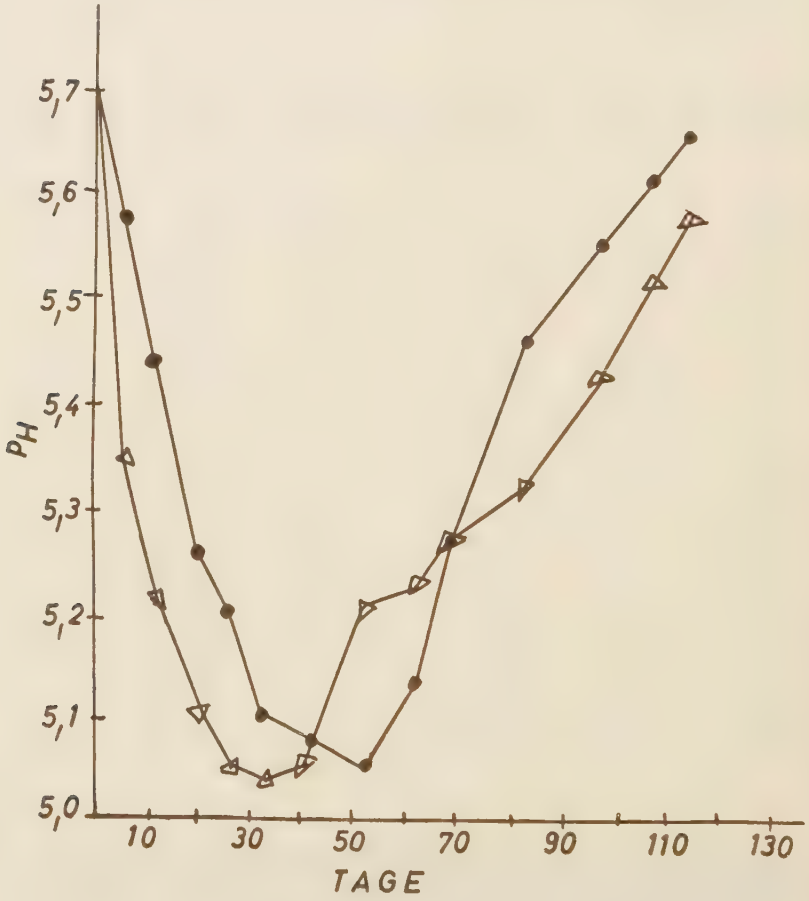
Gesamthämatingehalt in mg/100 g Rohwursttrockenmasse von schnellgereiften (Charge I) und naturgereiften Rohwürsten (Charge II) in Abhängigkeit von der Lagerzeit.

Tage	Charge I	Charge II
0	23,36	23,36
7	23,34	23,3
13	23,13	23,1
21	22,87	22,6
27	22,63	22,5
33	22,54	22,51
42	21,93	22,39
53	21,54	22,41
62	21,93	21,91
69	21,18	21,89
83	21,14	20,97
97	21,02	20,68
107	21,17	20,36
114	20,88	20,19

Der Gesamthämatingehalt betrug im Ausgangsmaterial, bezogen auf 100 g Rohwursttrockenmasse, 23,36 mg. Am Ende der Versuchszeit lagen die Werte bei 20,88 mg (Charge I), bzw. 20,19 mg (Charge II).

ABBILDUNG 1

p_H-Werte von schnellgereiften (Charge I) und naturgereiften Rohwürsten (Charge II) in Abhängigkeit von der Lagerzeit.



Charge I
Charge II

ABBILDUNG 2

Nitrosomyochromogengehalt (als Hämatin-HCl bestimmt) in mg/100 g Rohwurstprozeßmasse von schnellgereiften (Charge I) und naturgereiften Rohwürsten (Charge II) in Abhängigkeit von der Lagerzeit.

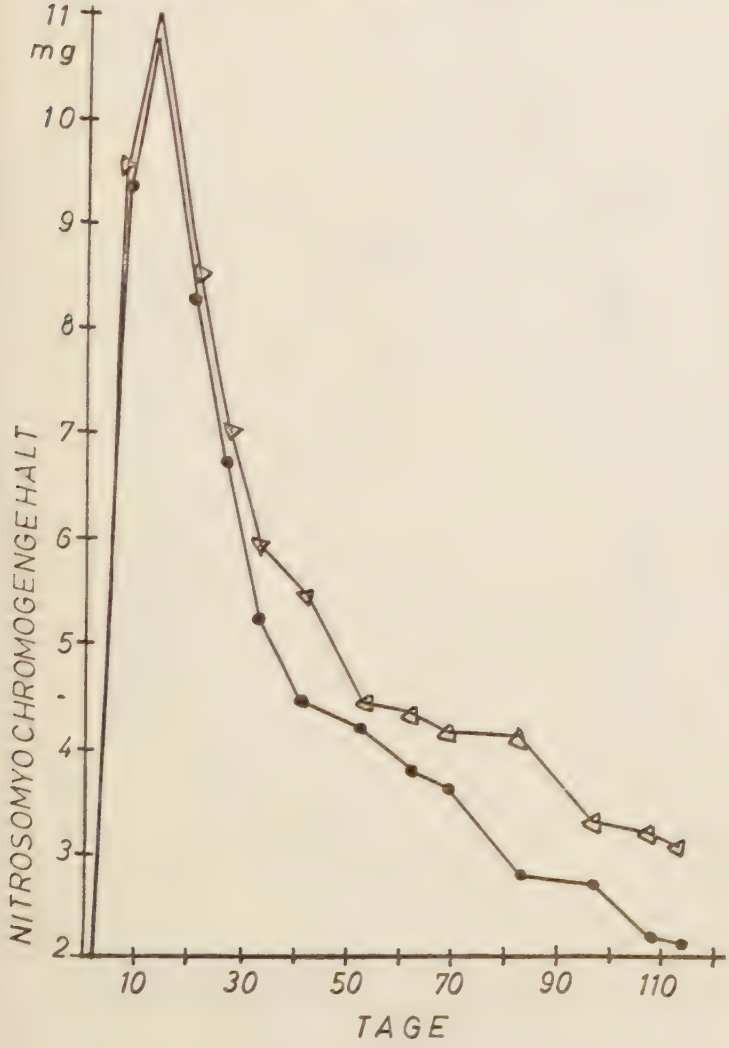


ABBILDUNG 3

Fettlöslicher roter Farbstoff in mg/100 g Rohwurst-trockenmasse von schnellgereiften (Charge I) und naturgereiften Rohwürsten (Charge II) in Abhängigkeit von der Lagerzeit.

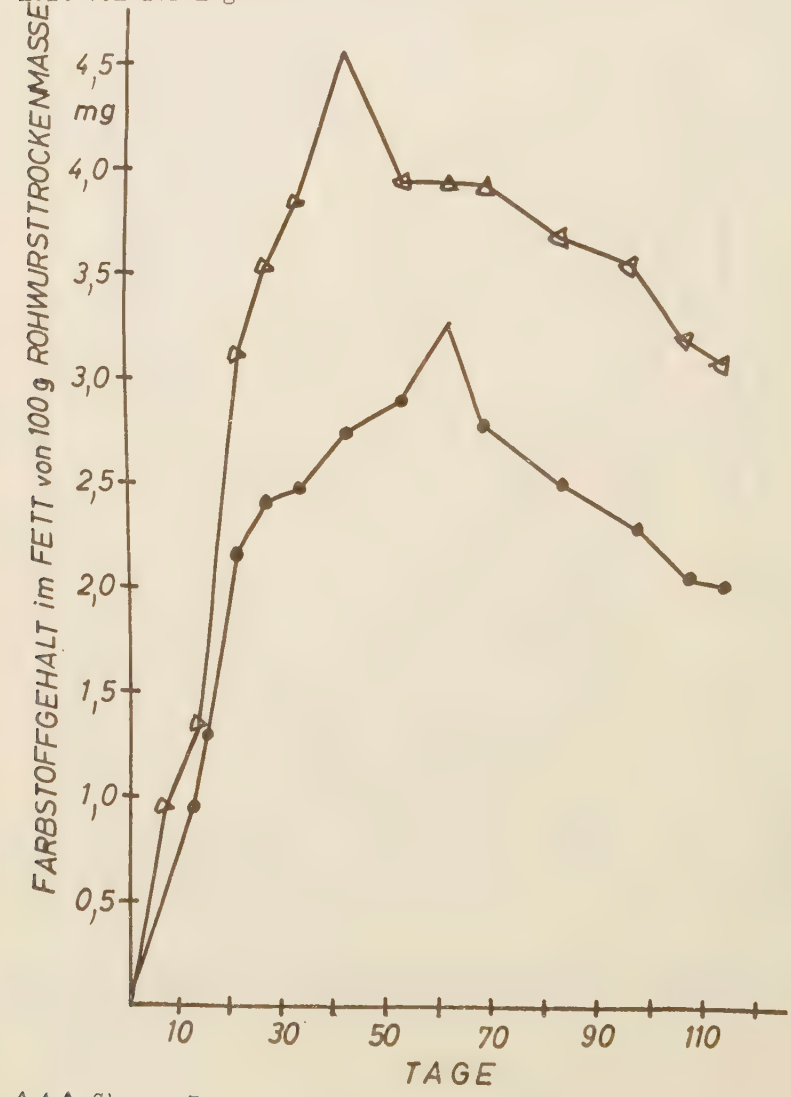
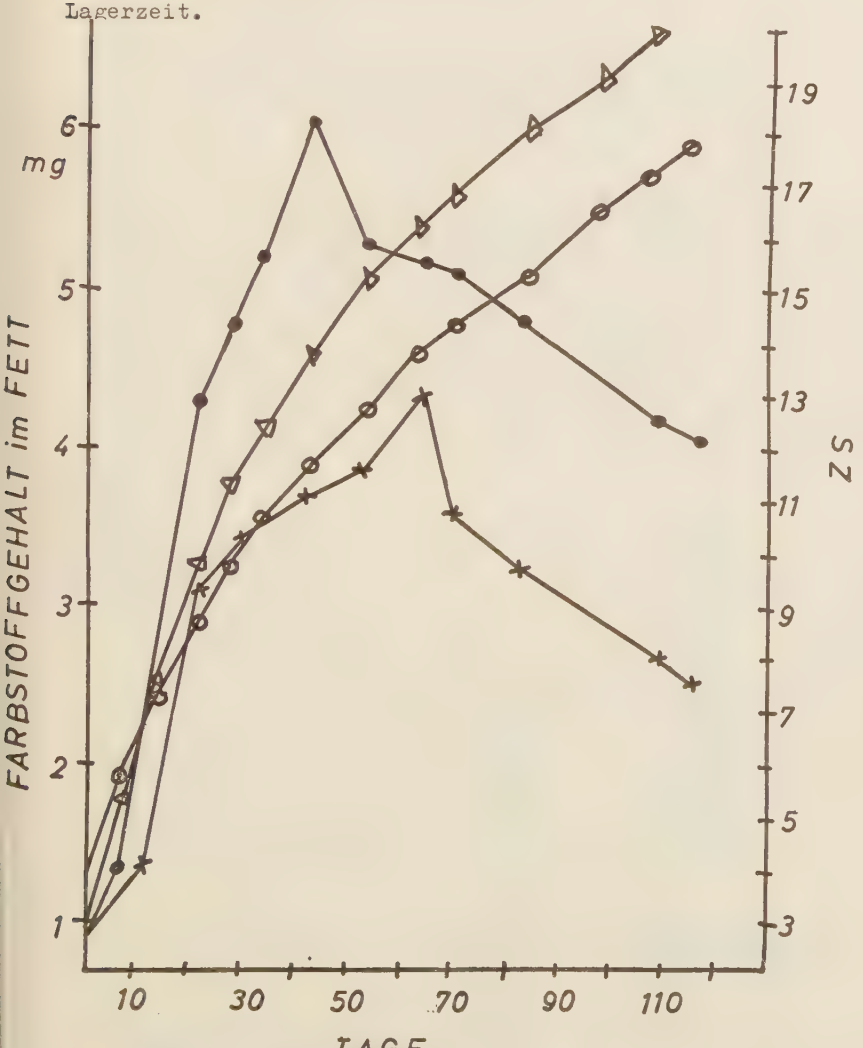


ABBILDUNG 4

Gegenüberstellung der Säurezahlen und des fettlöslichen roten Farbstoffgehaltes in mg/100 g Fett von schnellgereiften (Charge I) und naturgereiften Rohwürsten (Charge II) in Abhängigkeit von der Lagerzeit.



Säurezahl von ooo Charge I
ΔΔΔ Charge II

Fettl. Farbstoff v. ●●● Charge I
××× Charge II

Wie aus Abbildung 1 hervorgeht, sank der p_H-Wert bei Charge I etwas rascher als bei Charge II. Die Kurve von Charge I zeigt ein Minimum bei etwa 33 Tagen, die von Charge II bei 53 Tagen.

In den ersten 2 bis 3 Tagen war der Nitrosomyochromogengehalt (Abbildung 2) minimal und erreicht bei beiden Proben nach 10 - 15 Tagen Maximalwerte von etwa 11 mg/100 g Rohwursttrockenmasse. Danach wurde der Pökelfarbstoff abgebaut, und zwar erfolgte bei Charge II nach dem 30. Tag ein etwas intensiverer Abbau als bei Charge I.

Die im Fett gelöste rote Farbstoffmenge (Abbildung 3) war bis zum 10. Tage minimal. Bei Charge I wurde bereits am 42. Tag das Maximum mit 4,54 mg fettlöslichen roten Farbstoffs/100 g Rohwursttrockenmasse erreicht, während der Maximalwert von Charge II nur 3,26 mg/100 g Rohwursttrockenmasse betrug und erst am 62. Tag festgestellt wurde. Bei beiden Rohwurstchargen wurde nach Erreichung der Maximalwerte eine ständige Abnahme des im Fett gelösten roten Farbstoffes festgestellt.

Abbildung 4 stellt die Säurezahlen und die Gehalte an fettlöslichem rotem Farbstoff in Rohwürsten gegenüber. Am 42. Tag erreichte der Gehalt an rotem Farbstoff im Speck von Charge I sein Maximum mit 6,1 mg/100 g Fett, während bei Charge II das Maximum mit 4,32 mg/100 g Fett erst am 62. Tag erreicht wurde. Danach erfolgte bei beiden Chargen ein deutlicher Abfall. Die Säurezahlen von Charge I und II dagegen stiegen während der Lagerung stetig an. Das Diagramm zeigt, daß zwischen Säurezahl und Gehalt an fettlöslichem rotem Farbstoff kein Zusammenhang besteht.

II. ZUR IDENTIFIZIERUNG DES FETTLÖSLICHEN ROTEN FARBSTOFFES

In der Literatur (25, 49, 82, 84, 90, 115) wird bei gepö-

kelten Fleischwaren häufig von einem lichtempfindlichen Nitrosofarbstoff berichtet. Da vermutet wurde, daß es sich bei dem zu identifizierenden fettlöslichen roten Farbstoff um eine ähnliche Substanz handeln könnte, wurden sämtliche Reaktionen im Dunkeln durchgeführt.

a) Versuchsanordnung:

10 g von Muskeleiweiß sorgfältig befreite Fettpartikel einer naturgereiften Rohwurst (Lagerzeit 98 Tage) wurden bei Rotlicht in einen 250 ml Erlenmeyerkolben eingewogen. Anschließend wurde eine Minute lang ein kräftiger Strom von Reinststickstoff (99,99 %), der zuvor durch eine mit Aceton-Wasser (5:1) gefüllte Waschflasche geleitet wurde, zur Verdrängung des Sauerstoffs durch den Reaktionskolben geleitet; dann wurde der Gasstrom auf 2 - 3 ml/Min. reduziert, der Hahn des Tropftrichters geöffnet, 50 ml Aceton-Wasser (5:1) auf die Fettpartikel gegeben und anschließend 35 Minuten lang mit einem Magnetrührer gerührt.

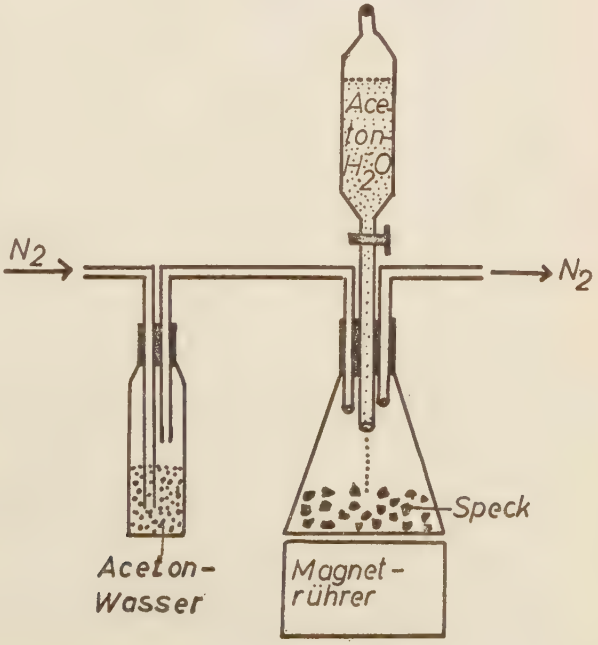
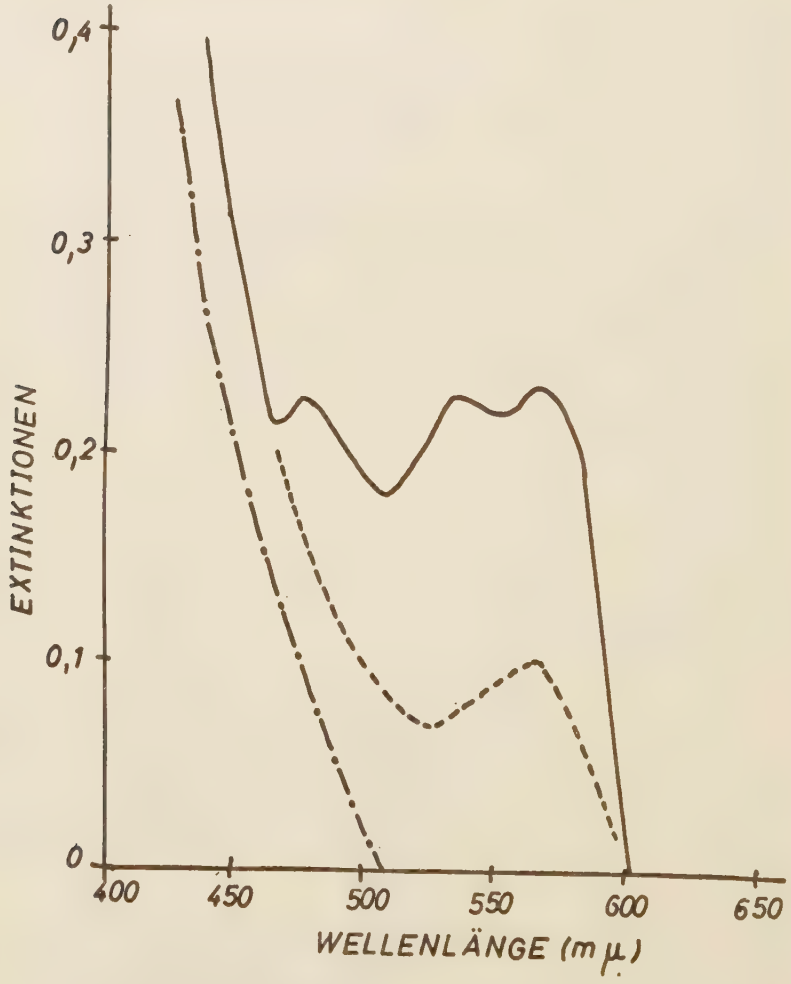


ABBILDUNG 5
Apparatur zur Extraktion des roten Farbstoffes aus dem Speck von Rohwürsten

Danach wurde vom farblosen Rückstand abfiltriert und die rote Acetonlösung im Beckman-Spektralphotometer DK-2 im Wellenbereich von 350 - 700 mμ gemessen.

ABBILDUNG 6

Lichtabsorptionsspektren des mit Aceton-Wasser extrahierten fettlöslichen roten Farbstoffes.



——— sofortige Messung

– – – – Messung nach 24 Stunden

—·—·— Messung nach 60 Stunden

b) Besprechung der Ergebnisse:

Die Maxima des fettlöslichen roten Farbstoffes liegen bei 535 mμ (α-Bande), 563 mμ (β-Bande) und 476 mμ, wobei α-Bande und β-Bande stark abgeflacht sind.

Wenn der Acetonextrakt 24 Stunden unter normalen Lichtverhältnissen im Labor stehengelassen wird, verschwinden die beiden Maxima bei 476 mμ und 535 mμ, nur die β-Bande bei 563 mμ ist noch erkennbar. Nach 60 Stunden Stehen im Labor ist der rote Farbstoff völlig zerstört, die Lösung ist gelb und die charakteristischen Maxima sind nicht mehr vorhanden.

Nach theoretischen Überlegungen könnte es sich bei dem roten fettlöslichen Pigment von Rohwürsten um folgende Farbstoffe handeln:

A. Eisenporphyrinkomplexe
   a) Wertigkeitsstufe II
      1) Häm
      2) Hämochromogen

   b) Wertigkeitsstufe III
      1) Hämatin
      2) Parahämatin

B. Metallfreie Porphyrine
   Protoporphyrin

Porphyrinmetallkomplexe haben im allgemeinen im sichtbaren Spektralbereich zwei verschiedene Banden, die sog. α-Bande und β-Bande (23).

Für Häm werden im sichtbaren Bereich Banden bei 575 und 550 mμ angegeben (KEILIN (57)).

Pyridin-Protohämochromogen (105) zeigt außer der α-Bande bei 557,2 mμ und der β-Bande bei 526,3 mμ in Pyridin gelöst

sogar ein schwaches Maximum bei 484, 2 mμ.

Ferriporphyrine weisen Absorptionsbanden mit wesentlich unschärferen Peaks auf als die Ferroporphyrine (48). Eine Bande bei Wellenlängen > 600 mμ ist ein wichtiges Indiz für den dreiwertigen Zustand des Eisens (48).

Hämatin zeigt lediglich 3 undeutliche Banden. Der Absorptionspeak im Rot liegt bei 610 mμ (48).

Ein Beispiel für ein Parahämatin ist das von KEILIN (59) untersuchte Hämatin-Albumin. Das charakteristischste Absorptionsmaximum dieses Spektrums liegt bei 620 mμ.

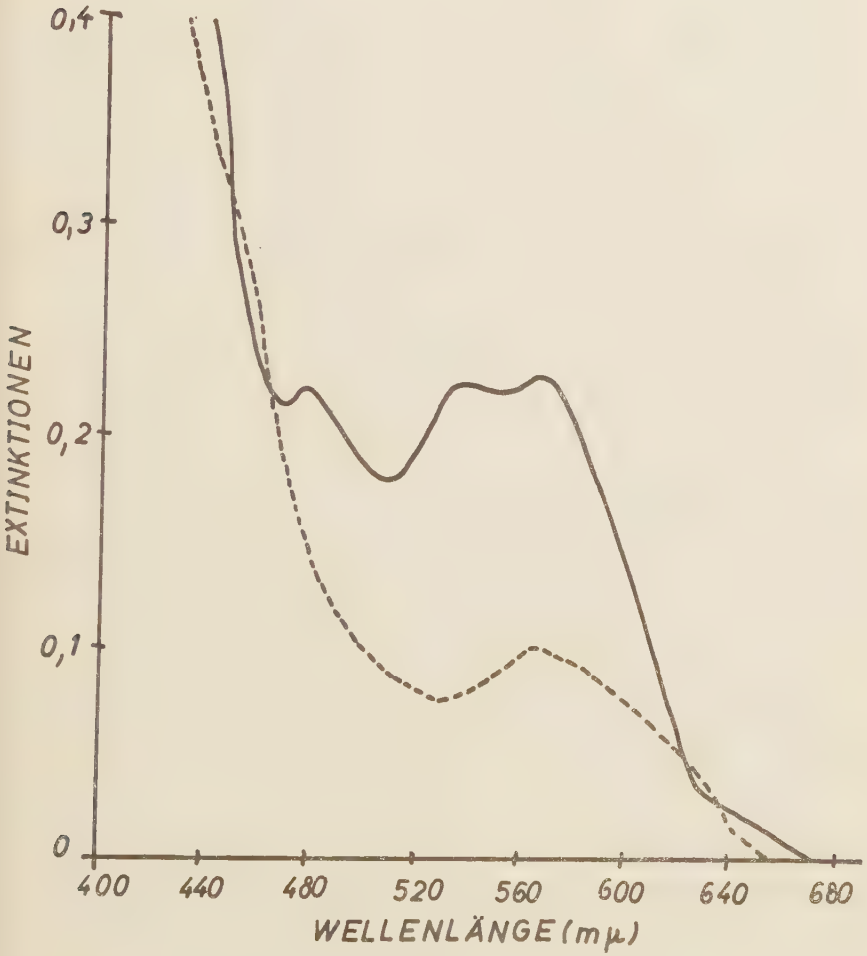
Alle metallfreien Porphyrine zeigen im sichtbaren Spektralbereich 4 scharfe Banden. Bei sämtlichen natürlich vorkommenden Porphyrinen nimmt die Extinktion der Peaks vom langen zum kurzen Wellenlängenbereich hin zu (108).

Vergleicht man nun die Maxima der oben angeführten möglichen Farbstoffe mit dem aus Rohwurstfett extrahierten, fettlöslichen Farbstoff, dann sieht man, daß das Pigment weder den bei Ferripyrrolfarbstoffen auftretenden Absorptionspeak λmax. > 600 mμ noch die 4 scharfen Banden von metallfreien Porphyrinen zeigt. Am besten stimmt das Spektrum des unbekannten Farbstoffes noch mit dem von Hämochromogenen überein; diese zeigen im allgemeinen 2 scharfe Banden zwischen 550 - 560 mμ (α-Bande) und 516 - 537 mμ (β- Bande) (48).

HORNSEY (49) extrahierte aus gekochtem gepökeltem Schweinefleisch mit Aceton-Wasser einen Farbstoff, dessen Maxima bei 476, 535 und 563 mμ liegen.

ABBILDUNG 7

Lichtabsorptionsspektrum des Nitroso-Häm-Aceton-Komplexes von HORNSEY (49)



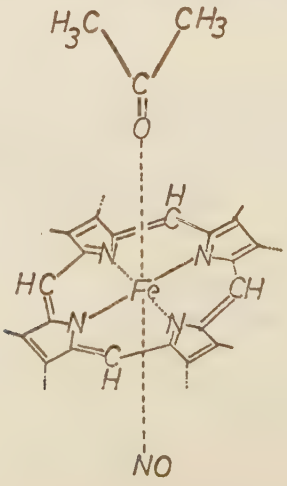
——— sofortige Messung

- - - - - - - Messung nach 24 Stunden

Aus dem Vergleich des Spektrums des roten fettlöslichen Farbstoffes von Rohwürsten (s. Abb. 6) mit dem Spektrum des Nitroso-Häm-Acetonkomplexes von HORNSEY (49) (s. Abb. 7) kann man ersehen, daß beide Verbindungen in ihrem Lichtabsorptionsvermögen weitestgehend übereinstimmen. Zwar sind α- und β-Bande stark abgeflacht; vergleicht man jedoch das Lichtabsorptionsspektrum von CN-CN-Häm mit dem CO-CN-Häm (57), dann sieht man, daß bei Besetzung der 5. und 6. Koordinationsstelle des Eisens mit verschiedenen Liganden eine Abflachung von α- und β-Bande erfolgt. Bei dem fettlöslichen, mit Aceton aus Rohwurst extrahierten Farbstoff handelt es sich daher mit großer Wahrscheinlichkeit ebenfalls um Ferroporphyrin, bei dem die 5. und 6. Koordinationsstelle mit verschiedenen Liganden besetzt ist. Da HAMSIK (40) einen Aceton-Chlor-Komplex rein darstellen konnte, ist bei Extraktion von Hämochromogenen mit Aceton die Besetzung der 6. Koordinationsstelle mit diesem Keton wahrscheinlich.

HORNSEY (49) konnte außerdem nachweisen, daß mit Aceton nur der Chromophor von Nitrosomyoglobin aus gepökelten Fleischwaren extrahiert wird. Die spektralphotometrischen Betrachtungen ergaben, daß der im Speck von Rohwürsten auftretende rote Farbstoff mit dem von HORNSEY (49) gefundenen Farbstoff Nitroso-Häm-Aceton-Komplex identisch ist.

Für diesen Nitroso-Häm-Aceton-Komplex wird folgender Strukturvorschlag gemacht:



D. D I S K U S S I O N

Im Rahmen dieser Arbeit sollten einige Ursachen, die die Rotverfärbung des Specks in Rohwürsten beeinflussen, geklärt werden. Außerdem sollte versucht werden, den roten fettlöslichen Farbstoff zu identifizieren und die Ursachen seiner Wanderung von den Muskelteilchen in die Speckteilchen zu klären.

Um den Einfluß verschiedener Reifungsfaktoren auf die Rotverfärbung des Specks in Rohwürsten zu studieren, wurden 2 Rohwurstchargen hergestellt, die nach verschiedenen Verfahren geprüft wurden. Die eine Charge (I) wurde im Schnellverfahren 3 Tage lang bei 22° C und 95 % relativer Luftfeuchtigkeit gereift und anschließend 8 Tage lang kaltgeräuchert, die andere Charge (II) wurde im sog. Naturverfahren 30 Tage lang bei 12° C und 90 % relativer Luftfeuchtigkeit gereift. Bei beiden Chargen wurde geprüft, ob zwischen Säurezahl, Jodzahl, Peroxydzahl, p_H-Wert, Gesamthämatingehalt, Nitrosomyochromogengehalt und fettlöslichem rotem Farbstoff Beziehungen bestehen.

Nach den vorliegenden Untersuchungsergebnissen stieg die Säurezahl in beiden Chargen mit zunehmender Lagerung an. Bei den naturgereiften Rohwürsten wurden stets höhere Werte als bei schnellgereiften und anschließend geräucherten Rohwürsten festgestellt. Dies wird wahrscheinlich durch die im Rauch enthaltenen phenolischen Stoffe, die die Spaltung der Fette in freie Fettsäuren und Glycerin hemmen, verursacht (53). Eine Gegenüberstellung des Farbstoffgehaltes im Fett und der Säurezahl als Funktion von der Lagerzeit (s. Abb. 4) zeigt deutlich, daß zwischen Säurezahl und Bildung des fettlöslichen roten Farbstoffes keine Zusammenhänge bestehen.

Aus der Jodzahl-Tabelle geht hervor, daß sich die Zahl der Doppelbindungen im Rohwurstfett innerhalb des Unter-

suchungszeitraumes nur ganz geringfügig ändert, so daß keine Aussagen über Zusammenhänge zwischen ungesättigten Kohlenwasserstoffen und Rotverfärbung im Speck gemacht werden können.

Die Peroxydzahl stieg bei beiden Chargen bis zum Versuchsende stetig an und erreichte am 114. Tag bei den naturgereiften Rohwürsten ungefähr den doppelten Wert der schnellgereiften. Der langsamere Anstieg des Peroxydgehaltes im Fett der schnellgereiften Rohwürste wird durch die Kalträucherung der Würste bedingt (123). Der höhere Peroxydgehalt in den naturgereiften Rohwürsten, der den Abbau von Muskelfarbstoffen fördert (123), verursacht sowohl die langsamere als auch geringere Zunahme des fettlöslichen roten Farbstoffes in diesen Würsten. Bei den schnellgereiften Rohwürsten wurde ein Absinken des fettlöslichen roten Farbstoffes ab 42. Tag (4,54 mg/100 g Rohwursttrockenmasse) bei einer Peroxydzahl von nur 1,65 festgestellt, während das Maximum dieses Farbstoffes bei den naturgereiften Rohwürsten erst am 62. Tag (3,26 mg/100 g Rohwursttrockenmasse) bei einer Peroxydzahl von 5,7 auftrat. Die Peroxydwerte hatten am Ende des Versuches (114. Tag) ihr Maximum noch nicht erreicht, so daß über Beziehungen zwischen Ranzigkeit und Gehalt des Rohwurstfettes an rotem Farbstoff nach Beendigung der Induktionsphase keine Aussagen gemacht werden können.

Bei den schnellgereiften Rohwürsten erreichte der p_H- Wert bereits am 33. Tag das Minimum, während der tiefste p_H-Wert bei den naturgereiften Rohwürsten erst am 53. Tag festgestellt wurde. Die zeitliche Verschiebung der beiden Minima ist durch die erhöhte Bakterientätigkeit und die dadurch eintretende intensivere Zuckerspaltung bei den schnellgereiften Rohwürsten erklärbar (115).

Ein Vergleich von Abbildung 3 (fettlöslicher roter Farbstoff) mit Abbildung 1 (p_H-Wert) zeigt, daß die Maximalwerte des fettlöslichen roten Farbstoffes sowohl der schnellgereiften,

als auch der naturgereiften Rohwürste in etwa mit den Minimalwerten ihres p_H-Wertes übereinstimmt. Auch TERPLAN (115) stellte bei Rohwurstproben mit tieferen p_H-Werten mehr fettlöslichen roten Farbstoff fest.

Das durch Rotverfärbung des Specks resultierende verwaschene Schnittbild von Rohwürsten kann verkaufsmindernd wirken. Es empfiehlt sich deshalb, Rohwürste vor Erreichen ihres p_H-Wert-Minimums zu verkaufen, da dieses in etwa mit dem Maximum an fettlöslichem roten Farbstoff zusammenfällt.

Auch die Reifungstemperatur könnte einen Einfluß auf den Gehalt des Rohwurstfettes an rotem Farbstoff haben, da die bei 22°C schnellgereiften Rohwürste mehr Farbstoff (Maximum 4,54 mg/100 g Rohwursttrockenmasse) enthielten, als die bei niederer Temperatur (12°C) gereiften (Maximum 3,26 mg/100 g Rohwursttrockenmasse).

Bei beiden Rohwurstchargen waren die Gesamthämatingehalte innerhalb des Untersuchungszeitraumes von 114 Tagen in etwa gleich hoch. Die Maximalwerte des fettlöslichen roten Farbstoffes differierten dagegen bei beiden Chargen um 1,28 mg/100 g Rohwursttrockenmasse, obwohl bei Erreichen der Maxima beide Wurstchargen gleiche Gesamthämatingehalte aufwiesen. Zwischen Bildung des roten Farbstoffes im Speck und Gesamthämatingehalt konnten deshalb keine Beziehungen nachgewiesen werden.

Wie in Abbildung 2 gezeigt wird, erreicht der Nitrosomyochromogengehalt bei beiden Wurstchargen nach 13 Tagen sein Maximum mit etwa 11 mg/100 g Rohwursttrockenmasse. Beim fettlöslichen roten Farbstoff wurden dagegen Maxima am 42. Tag (schnellgereifte Rohwürste) und am 62. Tag (naturgereifte Rohwürste) festgestellt. Diese zeitliche Verschiebung der Maxima des Nitrosofarbstoffgehaltes in der zerkleinerten Rohwurstmasse bzw. im Fett ist durch Wanderung dieses Pigments von den Muskelteilchen in die Speckteilchen zu erklären. Bei

den naturgereiften Rohwürsten wird der Nitrosofarbstoffgehalt in den Muskelteilchen infolge erhöhter Peroxydbildung (Tab. 4) rascher abgebaut (Abb. 2) (123); daraus resultiert auch der niedrigere Nitrosofarbstoffgehalt im Speck von Charge II.

Nach 55 - 65 Tagen wurde eine in etwa gleichmäßige Verteilung des Nitrosofarbstoffes in Muskel- und Speckteilchen festgestellt. Der Abbau des Farbstoffes durch steigenden Peroxydgehalt erfolgt in dem heterogenen Medium etwa gleichmäßig (Abb. 2 und 3).

Der fettlösliche rote Farbstoff wurde anhand seiner spektralphotometrischen Eigenschaften und durch Vergleich mit dem von HORNSEY (49) aus Fleisch extrahierten Nitrosofarbstoff als Nitroso-Häm-Verbindung identifiziert. Die 6. Koordinationsstelle des Eisens ist bei diesem Farbstoff nicht mehr vom denaturierten Globinrest besetzt, sondern wahrscheinlich durch niedermolekulare Liganden wie Nicotinamid, Pyridin, CO, NO, H_2O usw. (112). Der primäre Prozeß für die Bildung dieses fettlöslichen roten Farbstoffes (Nitrosohämochromogen = Nitrosomyochromogen ohne Globinanteil) ist die Entstehung von Nitrosomyochromogen in den Muskelteilchen. Dieser stabile Pökelfarbstoff, das wasserunlösliche, denaturierte Nitrosomyoglobin (=Nitrosomyochromogen) wird erst nach 3 - 5 Tagen gebildet (84). Voraussetzung dafür sind bakterielle Zuckerspaltung (p_H-Senkung) und Reduktion von Nitrit zu Stickstoffoxyd (38).

Zur Wanderung des Farbstoffes:

Da denaturiertes Nitrosomyoglobin (=Nitrosomyochromogen) weder in Wasser noch in organischen Lösungsmitteln löslich ist (84, 49), kann ausgeschlossen werden, daß das Pigment in Verbindung mit seinem denaturierten Protein in das Fett diffundiert. Die Tatsache, daß der Chromophor allein schon durch Behandlung mit organischen Lösungsmitteln (Aceton, Pro-

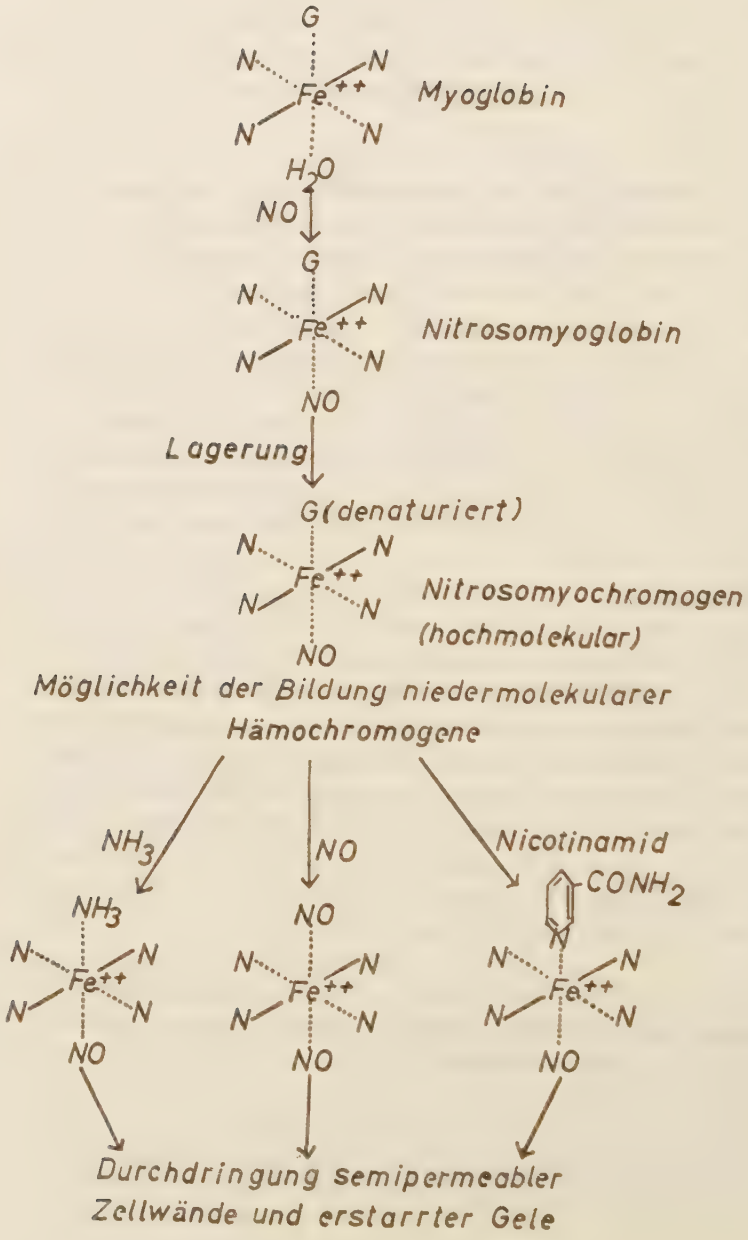
panol, Äther, Essigester usw.) vom Eiweiß abgespalten wird (82), spricht für eine sehr schwache Bindung zwischen Nitrosohämkomplex und denaturiertem Globinrest. Dagegen kann die Häm-Globin-Bindung vom Hämoglobin bzw. Myoglobin niemals allein durch organische Lösungsmittel gespalten werden (82).

Wie die Extraktion des Nitroso-Häm-Komplexes mit Aceton zeigt, können die Liganden der 6. Koordinationsstelle des zentralen Eisenatoms leicht ausgetauscht werden (49). Dadurch wird auch verständlich, daß in Rohwürsten die Bindung des Eisens zum hochmolekularen, denaturierten Globin gelöst und von Liganden wie Wasser, NH_3, Nicotinamid, Pyridin oder NO ersetzt werden kann. Auf diese Weise können sich aus hochmolekularen Chromoproteiden niedermolekulare Hämochromogene bilden. Die Bildung dieser niedermolekularen Farbstoffe schafft erst die Voraussetzung für die Durchdringung semipermeabler Zellwände und erstarrter Gele.

Da sich die Diffusionsgeschwindigkeit umgekehrt proportional zum Molekulargewicht des diffundierenden Stoffes verhält (26, 96), wandern niedermolekulare Stoffe bevorzugt.

Außerdem gibt es in der heterogenen Rohwurstmasse Substanzen, die auf Grund ihres chemischen Aufbaues besonders große Affinität zu den Pyrrolfarbstoffen haben. So ist von FALK (23) nachgewiesen worden, daß Pyrrolfarbstoffe eine große Affinität zu den Lipiden besitzen. Diese Affinität zu fettähnlichen Stoffen kann die Wanderung der Porphyrine vom Muskel in die Speckteilchen begünstigen.

Die Vorgänge bei der Rotverfärbung der Speckteilchen von Rohwürsten sollen in der folgenden Skizze nochmals übersichtlich dargestellt werden:


G
N
N
Fe++
N
N
Myoglobin
H2O
NO
G
N
N
Fe++
N
N
Nitrosomyoglobin
NO
Lagerung
G(denaturiert)
N
N
Fe++
N
N
Nitrosomyochromogen
(hochmolekular)
NO
Möglichkeit der Bildung niedermolekularer
Hämochromogene
NH3
NO
Nicotinamid
CONH2
NH3
NO
NO
NO
NO
NO
Durchdringung semipermeabler
Zellwände und erstarrter Gele

E. Z U S A M M E N F A S S U N G

1. Zur Ermittlung von Ursachen, die die Rotverfärbung des Specks von schnell- und naturgereiften Rohwürsten beeinflussen könnten, wurden über einen Zeitraum von 114 Tagen die Veränderungen des p_H-Wertes, Nitrosomyochromogengehaltes, Gesamthämatingehaltes, des Gehaltes an fettlöslichem rotem Farbstoff und die Peroxydzahl, Säurezahl und Jodzahl des Fettes bestimmt.

2. Zwischen Säurezahl und Jodzahl einerseits und Bildung sowie Wanderung des roten fettlöslichen Farbstoffes andererseits wurden keine Zusammenhänge festgestellt. Durch Peroxyde wird dieses Pigment abgebaut.

3. Das Maximum des fettlöslichen roten Farbstoffes fällt sowohl bei schnellgereiften als auch bei naturgereiften Rohwürsten in etwa mit dem Minimum des p_H-Wertes zusammen.

4. In schnellgereiften Rohwürsten tritt die Rotverfärbung des Specks intensiver auf als in naturgereiften. Das Maximum dieser Rotverfärbung tritt bei schnellgereiften Rohwürsten 20 Tage früher auf als bei naturgereiften.

5. Der rote fettlösliche Farbstoff wurde als Nitrosohämochromogen (=Nitrosomyochromogen ohne denaturierten Globinrest) identifiziert, der in Abhängigkeit von der Molekülgröße aus den Muskelteilchen in die Speckteilchen wandert.

F. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1. Andersen G., und L. ten Cate: Zuckerzusatz und p_H-Wert-Senkung bei der Rohwurstherstellung. Fleischwirtschaft 45 (1965), 599;

2. Anson, M.L. und A.E. Mirsky: Protein coagulation and its reversal. The preparation of insoluble globin, soluble globin and heme. J. Gen. Physiol. 13 (1930), 469;

3. Bartels, H., und K. Coretti: Erfahrungen bei der Untersuchung von Rohwurst-Fehlfabrikaten. Fleischwirtschaft 13 (1961), 639;

4. Beythien, A., und W. Diemair: Laboratoriumsbuch für den Lebensmittelchemiker. Verlag von Theodor Steinkopff, Dresden und Leipzig, 1957;

5. Böhm, A.: Untersuchungen an Pökelhilfsstoffen. Fleischwirtschaft 7 (1955), 383;

6. Bömer, A., und J. Großfeld: Allgemeine Untersuchungsmethoden für Speisefette. Handbuch der Lebensmittelchemie Verlag Julius Springer, Berlin, Band 4, 1939;

7. Brooks, J.: The action of nitrite on hemoglobin in the absence of oxygen. J. Proceed. Roy. Soc. of London, B 123 (1937), 368;

8. Brooks, J.: Color of meat. Food Res. 3 (1938), 75;

9. Broumand, H., C.O. Ball und E.F. Stier: Factors affecting the quality of prepackaged meat. II. Determining the proportions of heme derivates in fresh meat. Food Technol. 12 (1958), 65;

10. Brown, W.D., und A.L. Tappel: Identification of the pink pigment of canned tuna. Food Res. 22 (1957), 214;

11. Brown, W.D., und A.L. Tappel: Pigment-antioxydant relationships to meat-color stability. Proceedings of the Tenth Research Conference, American Meat Institute Foundation, University of Chicago, March 27 - 28, 1958, S. 81;

12. Callow, E.H.: The action of salts and other substances used in the curing of bacon and ham. Brit. J. of Nutrition 1 (1948), 269;

13. Castell, C.H., und E.H. Garrard: "Oxidase reaction" of bacteria on relation to dairy products. Food Res. 5 (1940), 215;

14. Césari, E.P.: Revue Générale de Médicine Vétérinaire 30 (1921), 57; zit. nach Lerche (73);

15. Chang, I., und B.M. Watts: The fatty acid content of meat and poultry before and after cooking. J. Am. Oil Chemists' Soc. 29 (1952),334;

16. Chang, I., und B.M. Watts: Antioxidants in the hemoglobin catalyzed oxidation of unsaturated fats. Food Technol. 3 (1949), 332;

17. Coretti, K.: Veränderung des Keimgehaltes während der Reifung von Rohwurst. Fleischwirtschaft 8 (1956), 197;

18. Coretti, K.: Rohwurstkeime und Wurstreifung. Fleischwirtschaft 8 (1956), 260;

19. Coretti, K., und K. Tändler: Einfluß der Zuckerzugabe auf die Qualität von Rohwurst. Fleischwirtschaft 45 (1965), 1055;

20. Deibel, R.H., C.F. Niven und G.D. Wilson: Microbiology of meat curing. III. Some microbiological and related technological aspects in the manufacture of fermented sausages. Appl. Microbiol. 9 (1961), 156;

21. Erdman, A.M., und B.M. Watts: Effect of storage conditions on loss of color and free sulfhydryl groups in cured meat. Food Techn. 11 (1957), 183;

22. Esau, P.: Stable aqueous 2,6-Dichlorobenzenone-indophenol solutions. Food Techn. 13 (1959), 346;

23. Falk, J.E.: Porphyrins and Metalloporphyrins. Elsevier Publishing Company, Amsterdam-London-New York 1964;

24. Fox, J.B.: The chemistry of meat pigments. J. Agric. Food Chem. 14 (1966), 207;

25. Gantner, G.: Zur Bestimmung der Farbe von gepökeltem Fleisch und Fleischerzeugnissen. Zschr. Lebensmitt.-Unters. 111 (1959/60), 277;

26. Gerthsen, C.: Lehrbuch der Physik
Springer Verlag, 1964, 137;

27. Gibbons, N.E.: Wiltshire Bacon.
Advances in Food Res. 4 (1953), 1;

28. Ginger, I.D., und B.S. Schweigert: Biochemistry of myoglobin. Chemical studies with purified metmyoglobin.
J. Agric. Food Chem. 2 (1954), 1037;

29. Ginger, I.D., G.D. Wilson und B.S. Schweigert: Biochemistry of myoglobin.
Quantitative determination in beef and pork muscle.
J. Agric. Food Chem. 2 (1954), 1037;

30. Grau, R.: Fleisch und Fleischwaren.
Verlag A.W. Hayn's Erben, Berlin 1960;

31. Grau, R., und A. Böhm: Untersuchungen über die Beeinflussung der Farbhaltung von Pökelfleischwaren.
Dt. Lebensmitt.-Rdsch. 51 (1955), 259;

32. Grau, R., und A. Böhm: Die Beeinflussung der Farbhaltung von Pökelfleischwaren.
Fleischwirtschaft 7 (1955), 652;

33. Grau, R., und A. Böhm: Über die Wirkung von Ascorbinsäure auf die Bildung und Stabilität von NO-Hämoglobin und NO-Myoglobin.
Dt. Lebensmitt.-Rdsch. 53 (1957), 254;

34. Greenberg, L.A., D. Lester und H.W. Haggard: The reaction of hemoglobin with nitrite.
J. Biol. Chem. 151 (1943), 665;

35. Haag, F.E.: Die Zersetzung der Fette durch Bakterien.
Arch. Hyg. 100 (1928), 271;

36. Haldane, J.S.: The red colour of salted meat. J. Hyg. 1 (1901), 115;

37. Hamm, R.: Fleischfarbe und Pökelprozeß. Fleischwirtschaft 6 (1954), 225;

38. Hamm, R.: Fleischfarbe und Pökelprozeß. Dt. Lebensmitt.-Rdsch. 50 (1954), 134;

39. Hamm, R.: Hämoglobin und Myoglobin. Handbuch der Lebensmittelchemie I (1965), 751;

40. Hamsik, A.: Über Additionsvermögen des Hämatins. Z. physiol. Chemie 190 (1930), 199;

41. Hanus, J.: DFG-Methoden (Abt. C - V); zit. nach Beythien-Diemair S. 234 (4);

42. Haurowitz, F.: Zur Chemie des Blutfarbstoffes. 4. Mitt.. Über das Sulfhämoglobin (nebst Nachträgen zu den früheren Mitteilungen). Hoppe-Seyler's Zschr. Physiol. Chem. 151 (1926), 130;

43. Haurowitz, F., P. Schwerin und M.M. Yenson: Destruction of hemin and hemoglobin by the action of unsaturated fatty acids and oxygen. J. Biol. Chem. 140 (1941), 353;

44. Hektoen, Robscheit-Robbins und Whipple: J. Inf. Dis. 42 (1928), 31; zit. nach Koller (68);

45. Hill, R.: Oxygen affinity of muscle hemoglobin. Nature 132 (1933), 897;

46. Hoagland, R.: The action of salpetre upon colour of meat. US. Dept. Agr. Bur. Anim. Ind. Report 25 (1908), 301;

47. Hoagland, R.: Colouring matter of raw and cooked salted meat. J. Agric. Res. 3 (1914), 211;

48. Hoppe-Seyler, F.: Hoppe-Seyler's Zschr. Physiol. Chem. 13 (1889), 477; zit. n. Siedel (105);

49. Hornsey, H.C.: The colour of cooked cured pork. I. Estimation of the nitric oxide-haem pigments. J. Sci. Food Agric. 7 (1956), 534;

50. Hornsey, H.C.: The colour of cooked cured pork. III. Distribution and relationship of pigments, p_H and cysteine. J. Sci. Food Agric. 10 (1959), 114;

51. Hornsey, H. C.: The colour of uncooked bacon. Bericht Nr. 15 der 7. Tagung Europäischer Fleischforscher, Warschau, September 1961;

52. Ingram, M.: Salty flavour in bacon. J. Soc. Chem. Ind. (London) 68 (1949), 356;

53. Jensen, L.B.: Microbiology of meats. 3. Aufl., The Garrard Press Publishers, Champaign, Illinois 1954;

54. Jensen, L.B., und L.S. Paddock: Sausage treatment with Lactobacilli. U.S. Patent, 2, 225, 783 (1940);

55. Jones, O.: Bacon and ham manufacture. Food 18 (1949), 151; Food 19 (1949), 57; zit. n. Gibbons (27);

56. Kaufmann, H.P., und J. Kaufmann: Pro- und Antioxydantien auf dem Fettgebiet XVI: Die Wirkung von Eisenporphyrin-Verbindungen auf die Autoxydation von Polyenen II. Fette, Seifen, Anstrichmittel 68 (1966), 15;

57. Keilin, J.: The reactions of haems with cyanides and isocyanides. Biochem. J. 45 (1949), 440;

58. Keilin, D., und E.F. Hartree: Reaction of nitric oxide with hemoglobin and methemoglobin. Nature (London) 139 (1937), 548;

59. Keilin, J.: Reaction of human serum albumin with haematin and haem. Nature 154 (1944), 120;

60. Kelch, F., und R. Heidtmann: Über den Einfluß von Recorbin auf die Qualität von Brühwurst und schnittfester Rohwurst. Fleischwirtschaft 12 (1960), 97;

61. Keller, H.: Versuche zur bakteriellen Aromatisierung der Rohwurst. Ann. Inst. Pasteur 7 (1955), 235;

62. Keller, H., und E. Meyer: Bakterielle Aromatisierung der Rohwurst. Fleischwirtschaft 6 (1954), 453;

63. Kendrew, J.C., R.E. Dickerson, B.E. Strandberg, R.G. Hart, D.R. Davies, D.C. Philipps und V.C. Shore: Structure of myoglobin. Nature (London) 185 (1960), 422;

64. Kennedy, R.P., und G.H. Whipple: The identity of muscle hemoglobin and blood hemoglobin. Amer. J. Physiol. 76 (1926), 685; zit. n. Koller (68);

65. Kiese, M., und H. Kaeske: Verbindungen des Muskelhämoglobins. Biochem. Zschr. 312 (1942), 121;

66. Kisskalt, K.: Beiträge zur Kenntnis der Ursachen des Rotwerdens des Fleisches beim Kochen, nebst einigen Versuchen über die Wirkung der schwefeligen Säure auf die Fleischfarbe. Arch. Hyg. 35 (1899), 11;

67. Körmendy, L., und G. Gantner: Über freie Aminosäuren während der Reifung der Rohwurst. Bericht Nr. 34 der 7. Tagung Europäischer Fleischforscher, Warschau, September 1961;

68. Koller, R.: Salz, Rauch und Fleisch. Verlag "Das Bergland-Buch", Salzburg 1941;

69. Kotter, L., und O. Prändl: Physikalisch-chemische Vorgänge bei der Fabrikation schnittfester Rohwürste. Fleischwirtschaft 10 (1958), 26;

70. Kotter, L., G. Terplan und C. Gervasini: Selektive Zugabe der Rohwurstingredienzien. Referat, gehalten auf der 5. Tagung Europäischer Fleischforscher, 7. - 11. 9. 1959, in Paris.

71. Kurko, V.: Oxydationshemmende Eigenschaften der Räucherkomponenten im Rauch. Fleischind. (russ.) 30 (1959), 3, S. 19;

72. Lea, C.H.: Rancidity in edible fats. Chemical Publishing Co., New York 1939;

73. Lerche, M.: Der Keimgehalt der Rohwurst. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 68 (1955), 71;

74. Lerche, M.: Laktobazillen in schnittfester Rohwurst. Arch. Lebensmittelhyg. 7 (1956), 1;

75. Lerche, M.: Mikroben in Rohwurst. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 69 (1956), 91;

76. Lerche, M., und H.-J. Sinell: Zum Vorkommen von Kokken in Rohwürsten. Arch. Lebensmittelhyg. 6 (1955), 194;

77. Mayer, H.: Die Rohwurst. Ein Handbuch zur Herstellung auf neuester praktisch-wissenschaftlicher Erkenntnis. Deutsche Fleischerzeitung Verlag Hans Holzmann, Berlin 1937;

78. Meyer, E.: Versuche zur bakteriellen Aromatisierung von Rohwürsten. Vet. Med. Diss., Gießen 1954;

79. Milbradt, W.H.: Die bei der Herstellung von Dauerwaren (Wurst usw.) durch nicht fachgemäße Behandlung auftretenden Schäden und ihre bakteriellen Ursachen. Vet. Med. Diss., Hannover 1936;

80. Millikan, G.A.: Muscle hemoglobin. Physiol. Rev. 19 (1939), 503;

81. Mirsky, A.E., und M.L. Anson: Protein coagulation and its reversal. The reversal of the coagulation of hemoglobin. J. Gen. Physiol. 13 (1929), 133;

82. Möhler, K.: Zur Bestimmung des Pökelfarbstoffes. Z. Lebensmitt.-Unters. 108 (1958), 20;

83. Mukherjee, S.: Studies on degradation of fats by microorganisms. I. Preliminary investigations on enzyme systems involved in the spoilage of fat. Arch. Biochem. Biophys. 33 (1951), 364;

84. Niinivaara, F.P.: Über den Einfluß von Bakterienkulturen auf die Reifung und Umrötung der Rohwurst. Acta Agralia Fennica 85, 1955;

85. Niinivaara, F.P., und M.S. Pohja: Über die Reifung der Rohwurst. I. Die Veränderungen der Bakterienflora während der Reifung. Z. Lebensmitt.-Unters. 104 (1956), 413;

86. Niinivaara, F.P., und M.S. Pohja: Über die Reifung der Rohwurst. II. Aus Rohwurst isolierte Bakterienstämme und ihre Bedeutung beim Reifungsprozeß. Z. Lebensmitt.-Unters. 106 (1957), 187;

87. Niinivaara, F.P. und M.S. Pohja: Die in der Rohwurst vorkommenden Bakterien und ihre Bedeutung beim Reifungsprozeß. Fleischwirtschaft 9 (1957), 264;

88. Niinivaara, F.P., und M.S. Pohja: Erfahrungen bei der Herstellung von Rohwurst mit Bakterienreinkulturen. Fleischwirtschaft 9 (1957), 789;

89. Niinivaara, F.P., M.S. Pohja und S.E. Komulainen: Über die chemischen Veränderungen in der Rohwurst während der Reifung , insbesondere über die Veränderungen der stickstoffhaltigen Substanzen. Bericht Nr. 31 der 7. Tagung Europ. Fleischforscher, Warschau, Sept. 1961;

90. Noetzel, O., und A. Pawletta: Über die Bildung eines fettlöslichen, roten Farbstoffes in zubereiteten Fleischwaren. Pharmazeutische Zentralhalle 75 (1934), 361;

91. Perutz, M.F., M.G. Rossmann, A.F. Cullis, H. Muirhead, G. Will und A.C.T. North: Structure of haemoglobin. Nature 185 (1960), 416;

92. Pezacki, W.: Die Farbveränderungen der Rohwürste und ihre objektive Messung. Referat, gehalten auf der 6. Tagung Europ. Fleischforscher in Utrecht, 29.8. - 3.9.1960;

93. Pezacki, W., und D. Szostaki: Die grundsätzlichen chemischen Vorgänge bei der Gärung der Rohwurst. Ber. Nr. 33 der 7. Tagung Europ. Fleischforscher, Warschau, Sept. 1961;

94. Pohja, M.S., und F.P. Niinivaara: Über die Reifung der Rohwurst. III. Über die antagonistische Wirkung eines Mikrokokkenstammes gegen die in Rohwurst vorkommenden Bakterienstämme. Z. Lebensmitt.-Unters. 106 (1957), 298;

95. Pohja, M.S., und F.P. Niinivaara: Eigenschaften und Bedeutung der in Rohwurst und in Pökellake vorkommenden fettabbauenden Bakterien. Fleischwirtschaft 44 (1964), 435;

96. Pohl, R.W.: Einführung in die Physik. Band I Springer Verlag 1964, 115;

97. Raseta, J., und S. Zakula: Untersuchungen der Wintersalami. Acta Veterinaria (Beograd) 8 (1958), Fasc. 4, 21;

98. Ray, G.B., und G.H. Paff: A spectrophotometric study of muscle hemoglobin. Am. J. Physiol. 94 (1930), 521;

99. Richardson, W.D.: Nitrates in vegetable foods, in cured meats and elsewhere. J. Am. Chem. Soc. 29 (1907), 1757; zit. nach Jensen (53, S. 30);

100. Rievel, H.: in Lerche-Goerttler-Rievel: Lehrbuch der tierärztlichen Lebensmittelüberwachung. Verlag Schaper, Hannover 1957, S. 420;

101. Robinson, M.E.: Haemoglobin and methaemoglobin as oxydative catalysts. Biochem. J. 18 (1924), 255;

102. Schönberg, F.: Prüfung von Rohwurstfehlfabrikaten im filtrierten UV-Licht unter besonderer Berücksichtigung der Porphyrinbildung. Fleischwirtschaft 8 (1956), 185;

103. Schulze, H.: Zum Nachweis der mikrobiell bedingten hydrolytischen Fettspaltung. Vet. Med. Diss., München 1965;

104. Shenk, J.H., J.L. Hall und H.H. King: Spectrophotometric characteristics of hemoglobins. I. Beef blood and muscle hemoglobins. J. Biol. Chem. 105 (1934), 741;

105. Siedel, W.: Pyrrolfarbstoffe. In Hoppe-Seyler-Thierfelder: Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse. Bd. IV/2, 10. Aufl., Springer Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1960, S. 921 - 933;

106. Siedler, A.J., und B.S. Schweigert: Effects of heat, nitrite level, iron salts, and reducing agents on formation of denatured nitrosomyoglobin. J. Agric. Food Chem. 7 (1959), 271;

107. Sinell, H.-J.: Versuche zur Verarbeitung und zum Nachweis von Ascorbinsäure in Fleischwaren. Fleischwirtschaft 9 (1957), 687;

108. Stern, A., und H. Wenderlein: Über die Lichtabsorption der Porphyrine. Z. physik. Chem. Abt. A 174 (1935), 81;

109. Takacs, J., und E. Zukal: Data concerning the microbiological and chemical changes of the Gyulai-type sausages in course of their ripening. Ber. Nr. 47 der 7.Tagung Europ. Fleischforscher, Warschau, Sept. 1961;

110. Tappel, A.L.: Linoleate oxidation catalysts occuring in animal tissue. Food Res. 18 (1953), 104;

111. Tappel, A.L.: Oxidative fat rancidity in food products. I. Linoleate oxidation catalyzed by hemin, hemoglobin and cytochrome c. Food Res. 18 (1953), 560;

112. Tarladgis, B.G.: Interpretation of the spectra of meat pigments. I. Cooked meats. J. Sci. Food Agric. 13 (1962), 481;

113. Ten Cate, L.: Das Schwitzen von Rohwurst. Fleischwirtschaft 12 (1960), 1038;

114. Ten Cate, L.: Die Lipasen der Rohwurst. Fleischwirtschaft 13 (1961), 742;

115. Terplan, G.: Biologische, chemische und physikalische Vorgänge bei der Herstellung von gepökelten und gereiften Fleischwaren. Abhandlung zur Erlangung der Venia legendi. Aus dem Institut für Nahrungsmittelkunde der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München, 1962;

116. Theorell, H.: Kristallinisches Myoglobin. I. Mitt.: Kristallisieren und Reinigung des Myoglobins sowie vorläufige Mitteilung über sein Molekulargewicht. Biochem. Z. 252 (1932), 1;

117. Theorell, H.: Kristallinisches Myoglobin. III. Mitt.: Die absolute Lichtabsorption von Oxy-, Carboxy-, Meta- und reduziertem Myoglobin. Biochem. Z. 268 (1933), 55;

118. Urbain, W.M., und L.B. Jensen: The heme pigment of cured meat. I. Preparation of nitricoxide hemoglobin and stability of the compound. Food Res. 5 (1940), 593;

119. Walz. E.: Über den Keimgehalt in Rohwurstfehlfabrikaten und seinen Einfluß auf die Porphyrinbildung. Lebensmitteltierarzt 5 (1954), 87;

120. Walz, E.: Über Porphyrinbildung und Keimgehalt in Fleisch-Räucherwaren. Lebensmitteltierarzt 5 (1954), 254;

121. Walz, E.: Die Bedeutung der aeroben Sporenbildner für die Fleischwirtschaft, insbesondere für Dauerwaren, Halbkonserven und Rohwürste. Habilitationsschrift, Hannover 1957;

122. Walz, E.: Die Einwirkung aerober Sporenbildner auf den Muskelfarbstoff. Arch. Lebensmittelhyg. 9 (1958), 200;

123. Watts, B.M.: Oxidative rancidity and discoloration in meat. Advances Food Res. 5 (1954), 1;

124. Watts, B.M., A.M. Erdman und J. Wentworth: Relation of free sulfhydryl groups to cured meat color. J. Agric. Food Chem. 3 (1955), 147;

125. Watts, B.M., und B.T. Lehmann: The effect of ascorbic acid on the oxidation of hemoglobin and the formation of nitric oxide hemoglobin. Food Res. 17 (1952), 100;

126. Watts, B.M., und B.T. Lehmann: Ascorbic acid and meat color. Food Technol. 6 (1952), 194;

127. Zanzucchi, A., und G. Delindati: Studie su alcuni stipiti batterici produttori di aroma, isolati da insaccati durante il processo di maturazione. Industria Conserve 30 (1955), 167;

128. Zanzucchi, A., und G. Delindati: Sull' influenza della flora batterica nei processi di maturazione degl' insaccati. Industria Conserve 32 (1957), 3;

Am Ende meiner Dissertation erlaube ich mir, Herrn Professor Dr. L. Kotter für die Überlassung des Themas verbindlichsten Dank zu sagen.

Mein Dank gilt ebenso Herrn Professor Dr. G. Terplan für sein stets hilfsbereites Entgegenkommen.

Herrn Dr. A. Palitzsch danke ich herzlich für die kritische Durchsicht des Manuskriptes.

L E B E N S L A U F

Am 18. Oktober 1941 wurde ich, Heide Voelter, geb. Schiedlich, als Tochter des Bäckermeisters Karl Schiedlich und seiner Ehefrau Carola, geb. Kremel, in München geboren. Im Januar 1942 fiel mein Vater in Rußland.

Nach 5 Jahren Volksschule in München trat ich 1952 in das Luisengymnasium in München ein, wo ich 1961 das Abitur ablegte.

Im Wintersemester 1961/62 begann ich das Studium der Tiermedizin an der Universität München, das ich im August 1966 mit der tierärztlichen Prüfung beendete.

Am 19. August 1966 heiratete ich den Diplomchemiker Dr. Wolfgang Voelter.